Série A. N° 3361
N° d'ordre :
4433

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
de l'Université de PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

André AEBERHARDT

PREMIÈRE THÈSE

Contribution à l'étude du métabolisme des produits de fission.

Recherches sur l'état Physico-Chimique et le devenir métabolique des solutions de radiocerium.

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la faculté

Soutenues le 27 Juin 1961 devant la Commission d'Examen

M^lle^ LE BRETON — Président

M. HAISSINSKY, M. BOUISSIÈRES — Examinateurs

érie A, N° 3361
N° d'ordre
4433

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
de l'Université de PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES SCIENCES NATURELLES

PAR

André AEBERHARDT

PREMIÈRE THÈSE

Contribution à l'étude du métabolisme des produits de fission.

Recherches sur l'état Physico-Chimique et le devenir métabolique des solutions de radiocerium.

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

Soutenues le 27 Juin 1961 devant la Commission d'examen

M^lle LE BRETON — Président

M. HAISSINSKY, M. BOUISSIÈRES — Examinateurs

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PROFESSEURS

Doyen ..... J. PERES

G. JULIA	T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure
DE BROGLIE	T	Théories physiques
PRENANT	T	Anatomie et histol. comparées
PERES	T	Mécanique des fluides et applications
BARRABE	T	Géologie struct. et Géologie appliquée
BOURCART	T	Géogr. physique et Géol. dynamique
PLANTEFOL	T	Botanique
GRASSE	T	Evolution des êtres organisés
PREVOST	T	Chimie organique
BOULIGAND	T	Application de l'analyse à la Géométrie
CHAUDRON	T	Chimie appliquée
WYART	T	Minéralogie
TEISSIER	T	Zoologie
MANGENOT	T	Biologie végétale
P. AUGER	T	Physique quantique et relativité
MONNIER	T	Physiologie générale
PIVETEAU	T	Paléontologie
ROCARD	T	Physique (E.N.S.)
H. CARTAN	T	Mathématiques (E.N.S.)
LAFFITTE	T	Chimie Générale
FAVARD	T	Géométrie supérieure
COULOMB	T	Physique du Globe
Mlle COUSIN	T	Biologie animale (S.P.C.N.)
CHRETIEN	T	Chimie minérale
P. DRACH	T	Zoologie
KASTLER	T	Physique (E.N.S.)
EPHRUSSI	T	Génétique
WURMSER	T	Biologie physicochimique
RIVIERE	T	Géologie (SPCN) Orsay
GAUTHERET	T	Biol. Végétale (PCB)
LUCAS	T	Recherches Physiques
A. THOMAS	T	Biol. cellulaire
ARNULF	T	Optique appliquée
M. MORAND	T	Enseignement de Physique
SOLEILLET	T	Physique (P.C.B.)
FORTIER	T	Mécanique expérimentale des fluides
DANJON	T	Astronomie
PETIT	T	Biologie maritime
QUENEY	T	Météorologie et dynamique atmosphérique
GALLIEN	T	Embryologie
EICHHORN	T	Biologie végétale (S.P.C.N.)
DE CUGNAC	T	Biologie végétale (S.P.C.N.)
Mlle CAUCHOIS	T	Chimie Physique
THELLIER	T	Physique du Globe
L'HERITIER	T	Génétique
GRIVET	T	Radioélectricité
PONCIN	T	Mécanique générale
DUBREIL	T	Arithmétique et théorie des nombres
QUELET	T	Chimie organique
CAGNIARD	T	Géophysique appliquée
CHAMPETIER	T	Chimie macromolécul.
CUVILLIER	T	Micropaléontologie
JUNG	T	Pétrographie
TRILLAT	T	Microscopie et diffract. électronique
WIEMANN	T	Chimie organique et structurale
JACQUINOT	T	Spectroscopie et physique céleste
VASSY	T	Physique de l'atmosphère
DESTOUCHES	T	Théories physiques
PRUVOST	T	Géologie
AMIEL	T	Chimie générale
HOCART	T	Minéralogie
J.P. MATHIEU	T	Physique (Orsay)
COUTEAUX	T	Biol. animale (PCB)
MAY	T	Zoologie (Orsay)
CHOQUET	T	Théor. des fonctions et Topologie
FELDMANN	T	Biol. végétale marine
GUINIER	T	Physique des Solides
JOST	T	Physiologie comparée
FORTET	T	Calcul des prob. et physique mathématique
SCHWARTZ	T	Calc. diff. et Intégr.
CHOUARD	T	Physiologie végétale
MALAVARD	T	Aviation
BRELOT	T	Calcul différentiel
NORMANT	T	Synthèse organique
BENARD	T	Chimie minérale
BUVAT	T	Botanique (E.N.S.)
DUGUE	T	Statistiques mathém.
GELOSO	T	Chimie (S.P.C.N.)
SOULAIRAC	T	Psychophysiologie
ULRICH	T	Physiologie végétale
MARECHAL	T	Optique théorique et appliquée
KIRRMANN	T	Théories chimiques
CHADEFAUD	T	Botanique
Mlle LE BRETON	T	Physiol. générale
SALEM	T	Mathématiques générales
LELONG	T	Mathématiques générales
DEVILLERS	T	Anatomie et Histol. comparées
EHRESMANN	T	Topologie algébrique
FRANÇON	T	Physique (S.P.C.N.)
GLANGEAUD	T	Géogr. physique et Géologie dynamique
GODEMENT	T	Mathématiques (MGP)
PISOT	T	Techniques mathem. de la Physique
ROCH E.	T	Géologie
SCHATZMANN	T	Astrophysique
TERMIER	T	Paléontologie stratigraphique
ZAMANSKY	T	Mathématiques générales
LENNUIER	T	Physique (M.G.P.)
RIZET		Génétique
ROUTHIER	T	Géologie appliquée
Mme TONNELAT	T	Relativité
DIXMIER	T	Mathématiques (MPC)
SOUCHAY	T	Chimie générale
AIGRAIN	T	Electrotechn. générale
BRUSSET		Chimie minérale
M. LEVY	T	Physique théorique des hautes énergies
Mme CHAIX		Chimie biologique
Mme HUREL-PY		Biol. vég. (P.C.B.)
PIAUX		Chimie (M.P.C.)
BRUN	T	Mécanique exper. des Fluides
LEDERER	T	Chimie biologique
Mme DUBREIL	T	Mathématiques
Mme LELONG	T	Mathem. (E.N.S.)
BELLAIR	T	Géologie (S.P.C.N.)
COTTE	T	Physique (Orsay)
DUBOIS J.E.	T	Chimie organique
LAMOTTE		Zoologie (E.N.S.)
MICHEL André	T	Chimie (S.P.C.N.)
OLMER	T	Energétique Gle
ROUAULT	T	Physique générale
GAUTHIER	T	Mécanique appliquée
BARCHEWITZ	T	Chimie Physique
BROSSEL	T	Physique atomique
BUSER		Physiologie comparée
CAMUS		Physiol. Vég. (3e Cycle)
CASTAING		Physique générale
CURIEN		Minéralogie et cristallographie
MOYSE	T	Physiol. Vég. (Orsay)
PANNETIER		Chimie (S.P.C.N.)
POSSOMPES	T	Zoologie
PULLMANN		Chimie théorique
TEILLAC		Physique nucléaire et radioactivité
TONNELAT		Biol. physico-chimique
VILLE	T	Econométrie
WILLEMART		Chimie (P.C.B.)
DODE	T	Chimie (SPCN) Orsay
FREYMANN	T	Physique générale
GUINOCHET	T	Biol. Vég. (Orsay)
ROLLET	T	Chimie (P.C.B.)
Mlle JOSIEN	T	Chimie (P.C.B.)
CHEVALLEY	T	Géométrie algébrique et théorie des groupes
ARNOULT	T	Electronique
CHAPELLE	T	Physique (M.P.C.) (Orsay)
DELANGE	T	Mathématiques (Orsay)
DENY	T	Mathématiques (MGP)
GERMAIN	T	Mécanique théorique des fluides
LUCAS G.	T	Géologique
ALLARD		Chimie Physique
BERTHELOT		Physique Nucléaire et Radioactivité
BRICARD		Météorologie et Physique de l'Atmosphère
Mme ALBE-FESSARD		Psychophysiol.
FRIEDEL		Physique des Solides
M. JULIA		Etude des molécules organiques complexes
LENDER		Biol. Animale (S.P.C.N.) (Orsay)
MAGAT		Physico-chimie des Rayonnements
Mlle QUINTIN	T	Electrochimie
MONOD	T	Chimie du métabolisme
BENOIT	T	Physiologie animale
DE POSSEL	T	Analyse numérique
CHARLOT	T	Chimie analytique
HAISSINSKY	T	Radiochimie
LEMEE	T	Physiologie B.M.P.V.
GUERIN	T	Chimie M.P.C.
CHATELET M		Chimie (S.P.C.N.)
JEAN		Physique Nucléaire et Radioactivité
MATTLER		Physique (S.P.C.N.)
MICHEL (Louis)		Physique théorique des hautes énergies
RUMPF		Chimie (P.C.B.)
BERGERARD		Zoologie (Orsay)
BERTEIN		Electronique
BOUISSIERES		Chimie des Radioéléments
Mme COUTURE		Physique (P.C.B.)
ELLENBERGER		Géologie Structurale et Géologie appliquée
FRANC		Biologie animale
SCHNELL		Botanique tropicale
STOLKOWSKI		Physiologie générale
ACHER		Chimie Biologique (Orsay)
BAUDOIN		Biologie animale (P.C.B.)
BEAUMONT		Biologie animale (S.P.C.N.)
BLAMONT		Géophysique Ionosphère
BOURREAU		Biologie Végétale S.P.C.N. (Orsay)
CURIE D.		Physique (M.G.P.)
DURAND-DELGA		Géologie
FREON		Chimie (P.C.B.)
HELLER		Physiologie végétale
TORTRAT		Calcul des Probabilités
CAILLEUX		Géologie (S.P.C.N.)
MAGNAN		Physique (M.P.C.)
DAUDEL		Mécanique Ondulatoire appliquée à la chimie théorique et à la Physique Nucléaire
Mlle FOURCROY		Biologie Végétale (S.P.C.N.)

Secrétaire général ..... C. MONIER

Ce travail a été réalisé dans le Service de Biologie du Commissariat à l'Energie Atomique de Monsieur le Professeur Coursaget que je remercie ici de l'aide qu'il m'a apportée.

J'exprime mes remerciements à Monsieur le Médecin Général Inspecteur Debenedetti, Directeur des Services de Santé des Armées et à Monsieur le Médecin Général Jaulmes qui m'ont permis de mener à bien ce travail.

Je remercie également Mademoiselle Le Breton, Professeur de Physiologie générale à la Faculté des Sciences de Paris, qui a bien voulu me faire l'honneur de présider mon jury de thèse et Messieurs les Professeurs Haissinsky et Bouissieres qui ont accepté de faire partie du jury.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41538123_0020

I

INTRODUCTION

L'utilisation croissante des radioéléments artificiels, tant au laboratoire que dans l'industrie, le développement de l'énergie d'origine nucléaire à des fins pacifiques ou militaires, ont suscité, depuis une quinzaine d'années, de très nombreux travaux destinés à définir les risques auxquels peuvent être soumis les individus ou les populations du fait de l'énergie nucléaire.

Parallèlement à l'irradiation par voie externe et à la contamination externe de la surface cutanée par les radioéléments, l'introduction de radioisotopes dans l'organisme constitue un risque dont il importe de connaître les caractéristiques et de préciser l'importance, les conséquences pouvant être sérieuses tant sur le plan individuel que pour l'ensemble de l'humanité.

Peu après la découverte des radioéléments naturels, l'étude des conséquences de l'introduction de ces éléments dans l'organisme a été entreprise. Les résultats expérimentaux obtenus chez l'animal, ainsi que les observations faites chez l'homme après administration accidentelle ou délibérée de radium, de thorium ou de leurs descendants, ont montré le danger de l'utilisation de ces radioéléments dans certaines conditions et ont conduit à la fixation des doses pathogènes et mortelles de ces différents éléments.

Dès 1936 ces études ont été étendues aux radioéléments artificiels et un effort important a été poursuivi depuis 1945 pour étudier les produits de fission libérés dans l'atmosphère en quantité importante à l'occasion des explosions expérimentales d'engins nucléaires ou susceptibles d'être déversés dans l'atmosphère à l'occasion d'un accident au cours du fonctionnement d'un réacteur nucléaire.

De très nombreux travaux ont été entrepris : ils constituent une branche particulière de la toxicologie, la radiotoxicologie ; celle-ci a pour but de préciser d'une part le devenir des radioéléments, naturels ou artificiels, dans l'organisme et d'autre part de déterminer les effets immédiats ou différés provoqués par les divers radioéléments introduits dans l'organisme.

Bien que la radiotoxicologie entre dans le cadre de la toxicologie classique, elle en diffère en de nombreux points :

- son domaine d'application est plus restreint : il est limité aux radioéléments naturels et artificiels,

- elle présente une unité que n'a pas la toxicologie : elle est due à l'unicité du mode d'action primaire (libération d'énergie à l'intérieur des tissus par les différents rayonnements émis), bien que les modalités en soient différentes pour chaque type de rayonnement,

- elle concerne des quantités extrêmement faibles de produits en général de plusieurs ordres de grandeurs inférieures aux quantités en jeu en toxicologie classique.

- la toxicité des radioéléments étant directement reliée à leur radioactivité, les doses sont exprimées habituellement en unités de radioactivité (sous-multiples du curie) et non en unités de masse.

La toxicité d'un radioélément étant fonction des modalités de distribution de l'énergie absorbée dans les tissus, est fonction non seulement de la nature du radioélément et de ses caractéristiques radioactives (nature et énergie du rayonnement émis, période de décroissance radioactive), mais également de sa distribution dans l'organisme, du temps de séjour dans les différents tissus, de la radio-sensibilité des cellules.

De ce fait, l'étude du métabolisme (*) des différents radioisotopes dans l'organisme prend une importance capitale en radiotoxicologie. La fixation des doses pathogènes ou mortelles d'un radioélément, ainsi que l'évaluation du type et de l'importance relative de certaines affections (leucémies, cancers, raccourcissement de la vie, lésions génétiques) apparaissant plus ou moins tardivement après la radiointoxication ne constituent qu'un aspect du problème. En effet, seule la connaissance du métabolisme d'un radioélément peut permettre de prévoir les conséquences d'une radiointoxication et seule elle peut apporter les éléments indispensables à toute tentative thérapeutique raisonnée.

L'étude du métabolisme des éléments stables a été effectuée pour la plupart d'entre eux bien avant l'apparition de leurs radioisotopes. Pour un élément stable donné, les informations acquises par ces études ne sont pas en général, directement applicables à ses radioisotopes : des travaux récents ont montré, en effet, que le comportement d'un élément dans l'organisme était fonction, entre autre, de la masse de l'élément administrée. Les radioéléments sont en général administrés en quantité pondérale extrêmement faible alors que les études effectuées sur les éléments stables mettent en jeu des quantités de produits nettement plus grandes ; des différences, parfois très importantes dans la répartition de l'élément dans l'organisme ont été signalées en fonction de la quantité utilisée.

Cette étude comporte différents aspects : doivent être précisées en particulier, la distribution dans l'organisme en fonction de la voie d'introduction, à l'échelle de l'organe, du tissu ou des cellules, les modifications de cette distribution en fonction du temps, la durée de séjour de l'élément dans l'organisme, les modalités de l'élimination par les différents émonctoires. De plus, il est indispensable de préciser les mécanismes mis en jeu ainsi que les modes de transport dans les liquides biologiques et dans le sang en particulier. L'étude des modes de transport et des mécanismes mis en jeu par l'organisme prend une importance particulière en thérapeutique : devant l'impossibilité de modifier les propriétés radioactives d'un élément, et en l'absence de tout traitement étiologique des lésions primaires au niveau des cellules, la seule possibilité thérapeutique réside actuellement dans la mobilisation du radioélément vers des tissus moins radiosensibles, ou dans l'augmentation de l'élimination urinaire ou fécale. Pratiquement, les seuls résultats positifs obtenus jusqu'ici l'ont été lorsque l'agent thérapeutique agit sur le radioélément pendant la phase sanguine de la radiointoxication.

Ces faits justifient les nombreux travaux effectués depuis 1945 dans le but de préciser le métabolisme des divers radioéléments et les mécanismes mis en jeu par l'organisme au cours d'une radiointoxication.

Une fraction importante des radioéléments formés au cours de la fission des noyaux lourds est constituée par les radioisotopes des terres rares : le rendement de fission (**) est élevé (4 à 6%) pour la plupart d'entre eux.

Les éléments stables des terres rares n'existent normalement qu'à l'état de traces dans l'organisme et aucun rôle physiologique ne leur a été attribué jusqu'ici. L'étude de leur métabolisme a été négligée jusqu'en 1945 et seules les doses toxiques ont pratiquement été déterminées. La présence de nombreux radioisotopes des terres rares dans le mélange de produits de fission a modifié la situation ; les travaux expérimentaux entrepris depuis 1945 ont immédiatement montré que ces radioisotopes constituaient un danger important et que l'étude précise de leur métabolisme était indispensable.

Des considérations théoriques basées d'une part sur la notion de nombre de noyaux radioactifs formés au cours de la fission simultanée d'un nombre donné de noyaux d'uranium 235, et d'autre part, sur les quantités maxima admissibles des divers radioéléments dans l'organisme, exprimées en unités de masse et non en unités de radioactivité, nous ont montré que parmi les produits de fission, le cérium 144 devait être considéré comme un des plus dangereux (Aeberhardt [2]). La toxicité de cette terre rare devient comparable à celle des radioisotopes du strontium (^{89}Sr et ^{90}Sr), en particulier dans le cas d'inhalation de poussières ou d'aérosols.

(*) Le terme "métabolisme" est couramment utilisé actuellement pour désigner le devenir d'un élément après son introduction dans l'organisme, ainsi que pour désigner l'ensemble des processus qui règlent sa distribution. Cette utilisation peut être considérée comme abusive lorsqu'il s'agit d'un élément n'existant pas à l'état normal dans l'organisme et auquel aucun rôle physiologique n'a été attribué jusqu'ici.

(**) On appelle rendement de fission, le nombre d'atomes d'un radioélément ou d'une chaîne donnée, créés au cours de la fission de cent noyaux d'élément fissile.

Cet élément présente une importance particulière du fait du rendement de fission élevé de la chaîne 144 (6 %), de sa période radioactive (290 jours) et de l'énergie du rayonnement béta émis par son descendant en équilibre séculaire, le praséodyme 144 (énergie maxima 2,98 MeV). Il est, de plus, considéré comme élément type des terres rares "légères".

Nous avons donc choisi cet élément et nous avons entrepris l'étude de son métabolisme chez divers mammifères de laboratoire.

Les quelques travaux publiés avant 1954 sur le métabolisme du cérium 144 ont fait apparaître une fixation importante du cérium dans le tissu hépatique et dans le squelette. Cependant les résultats publiés font état de variations parfois importantes dans le taux de fixation dans ces deux organes, pour une même voie d'administration (voie intra-veineuse en particulier). De plus, différents auteurs ont signalé un manque de stabilité des solutions de sels céreux utilisés. L'étude des mécanismes de fixation dans les organes et celle des modes de transport dans le sang n'avaient pratiquement pas été abordées en 1954.

La localisation élective du cérium 144 dans le foie a été attribuée par tous les auteurs à la fonction colloïdopexique de cet organe, le cérium trivalent se trouvant sous forme colloïdale dans le sang après injection intra-veineuse. Cette hypothèse a été admise après les travaux effectués avec d'autres terres rares et du fait des propriétés connues du cérium, celui-ci formant un hydroxyde colloïdal au pH des liquides biologiques. Cependant, elle est difficilement compatible avec certains résultats expérimentaux ayant montré soit une absence de fixation par la rate, organe riche en éléments du système réticulo-endothélial, soit l'existence vraisemblable d'une liaison protéine-metal dans le plasma de rat.

Ayant constaté, au cours d'expériences préliminaires, le rôle joué par l'état physico-chimique sous lequel se trouve le cérium dans la solution administrée, sur le mode de transport de cet élément dans le sang et sur la distribution initiale dans l'organisme, nous avons été amené à étudier dans un premier temps, la nature physico-chimique du cérium en solution à l'état de trace.

En fonction des résultats obtenus au cours de cette étude, nous avons étudié les modes de transport du cérium sans entraîneur dans le sang, in vitro et in vivo, après injection intra-veineuse, chez différents animaux de laboratoire, dans le but d'infirmer ou de confirmer l'hypothèse de la transformation du cérium ionique en cérium colloïdal au contact du sang.

Dans un troisième temps, nous avons étudié le rôle de l'état physico-chimique du cérium dans la solution d'injection, sur la répartition initiale de cet élément dans l'organisme.

II

RAPPEL DE QUELQUES PROPRIÉTÉS CHIMIQUES ET PHYSIQUES DU CÉRIUM

Le cérium, élément 58, découvert en 1803 (CeO_2) dans la cérite par Klapoth et isolé en 1814 par Berzelius, appartient au groupe des terres rares. Cet élément est relativement abondant dans la nature (46,1 g par tonne d'écorce terrestre), sensiblement aussi abondant que d'autres métaux plus usuels tels que le nickel, le cobalt ou le cuivre [37].

PROPRIETES CHIMIQUES.

Le cérium existe sous deux états de valence, + 3 et + 4. Il présente la configuration électronique caractéristique des terres rares : la présence d'un électron sur l'orbite $4f^1$ le place comme tête de file d'une série d'éléments dans lesquels cet orbite se complète jusqu'à 14 électrons.

La configuration électronique théorique de la couche externe est la suivante :

$4f^1$	$5d^1$	$6s^2$	pour l'atome neutre
$4f^1$			pour le cation trivalent.

Le cérium tétravalent présente la configuration électronique du lanthane trivalent sans électron 4f.

Un des traits caractéristiques du cérium trivalent est une basicité relativement élevée. Elle se traduit par :

- une hydrolyse légère des solutions salines des anions faibles,
- l'existence de sels stables tels que les carbonates et les acétates,
- la température élevée (450°) nécessaire pour la pyrolyse des sels contenant de l'oxygène.

Le cérium trivalent est moins basique que les ions alcalins et que les ions alcalino-terreux, ce qui se traduit par la facilité de l'hydrolyse des sels d'anion fortement basique (nitrate céreux par exemple). Britton indique comme pH de précipitation de l'hydroxyde céreux, $Ce(OH)_3$ 7,4 [9].

L'hydrolyse comprend plusieurs réactions du type suivant :

$$R^{+++} + H_2O \rightleftharpoons ROH^{++} + H^+$$

et :

$$R^{+++} + H_2O \rightleftharpoons RO^+ + 2H^+$$

dans des proportions variables, avec prépondérance de la première.

En solution diluée, l'hydrolyse des sels de cérium trivalent, comme pour les autres terres rares, débute par la formation de sols contenant des sels basiques.

Le cérium tétravalent est beaucoup moins basique. Le pH de précipitation de l'hydroxyde est voisin de 2. Les sels de cérium tétravalent sont instables, en particulier en présence de matière organique. Dans les solutions de cérium radioactif l'état de valence est pratiquement trois.

PROPRIETES PHYSIQUES RADIOACTIVES.

Quatre isotopes stables existent, dans les proportions suivantes :

$^{136}_{58}Ce$	0,19 %
$^{138}_{58}Ce$	0,25 %
$^{140}_{58}Ce$	88,5 %
$^{142}_{58}Ce$	11,1 %

Quatorze radioisotopes ont été découverts ; leurs masses s'échelonnent entre 131 et 148. Parmi ceux-ci, seuls ceux de masse supérieure à 141 sont créés au cours de la fission nucléaire, en même temps que les isotopes stables 140 et 142 (Tableau I).

Tableau I.

Isotopes du cérium créés au cours de la fission nucléaire.

Isotope	Rendement de fission (^{235}U)	Rayonnement émis	Période radioactive	Energie maximum (MeV)	Energie (MeV)
$^{140}_{58}Ce$	6,4 %	-	stable	-	-
$^{141}_{58}Ce$	6 %	$\beta + \gamma$	32 jours	0,43 0,57	0,145
$^{142}_{58}Ce$	6 %	-	stable	-	-
$^{143}_{58}Ce$	6 %	$\beta + \gamma$	32 jours	1,09 1,39 0,71	spectre complexe compris entre 0,035 et 0,72.
$^{144}_{58}Ce$	5,7 %	$\beta + \gamma$	290 jours	0,30 0,22 0,17	spectre complexe 0,134 à 0,094.
$^{145}_{58}Ce$	4 %	$\beta + \gamma$	3 minutes	2,0	faible
$^{146}_{58}Ce$	3,1 %	$\beta + \gamma$	14 minutes	0,7	spectre complexe 0,32 à 0,27.
$^{147}_{58}Ce$	2,4 %	?	court ?	?	?
$^{148}_{58}Ce$	1,7 %	?	court ?	?	?

Seuls le cérium 141 et le cérium 144 peuvent être utilisés pour des expériences biologiques de quelque durée.

En pratique, le cérium 141 n'est pas isolé à partir du mélange de produits de fission : il est obtenu par irradiation de CeO_2 par réaction (n,γ), avec entraineur. Simultanément il y a formation de cérium 143 par réaction (n,γ).

Le cérium 144 est le seul radioisotope extrait habituellement du mélange de produits de fission. Il est obtenu "sans entraineur". Cependant il est nécessairement accompagné de quantités

équivalentes des deux isotopes stables du cérium résultant de la décroissance des chaînes 140 et 142.

Au cours de ce travail nous avons utilisé exclusivement le cérium 144 sans entraîneur, sous forme de solution en milieu nitrique ou chlorhydrique 1 N. 1 µc de cérium 144 correspond à une masse de 3.10^{-10} g.

CHAINE DE FISSION 144 (Sullivan 1957) [59].

$$^{144}_{54}Xe \xrightarrow[1\ sec.]{\beta} {}^{144}_{55}Cs \xrightarrow[<1\ sec.]{\beta} {}^{144}_{56}Ba \xrightarrow[<1\ sec.]{\beta}$$

$$\longrightarrow {}^{144}_{57}La \xrightarrow[<1\ sec.]{\beta} {}^{144}_{58}Ce \xrightarrow[290\ jours]{\beta + \gamma} {}^{144}_{59}Pr \longrightarrow$$

$$\xrightarrow[17,5\ mn]{\beta + \gamma} {}^{144}_{60}Nd \xrightarrow[2.10^{15}ans]{\alpha} {}^{140}_{58}Ce \quad \text{stable}$$

Il convient de remarquer que cette chaîne comprend, avec le cérium 144, des éléments à vie très brève. Le cérium 144 décroit en produisant le praséodyme 144 de période 17,5 minutes, ce qui se traduit par la présence, en équilibre radioactif, de praséodyme 144 dans toute préparation de cérium 144. Les solutions utilisées sont donc en réalité un mélange de cérium 144 et de praséodyme 144. Cette chaîne présente une particularité remarquable : elle est la seule parmi les chaînes de fission qui se termine par un émetteur alpha, le néodyme 144 de période 2.10^{15} ans, formant par décroissance du cérium 140 stable.

Spectre de transformation radioactive de $^{144}_{58}Ce$ et de $^{144}_{59}Pr$.

$^{144}_{58}Ce$	β :	0,30 MeV	72 %
		0,17 MeV	22 %
		0,22 MeV	43 %
		plus d'autres β mal définis.	
	γ :	0,134 MeV	
		0,081 MeV	
		0,094 MeV	
		plus d'autres γ hypothétiques.	
$^{144}_{59}Pr$	β :	2,98 MeV	98 %
		2,22 MeV	1 %
		0,8 MeV	2 %
	γ :	0,695 MeV	
		2,18 MeV	
		1,48 MeV	

Les alpha du $^{144}_{60}Nd$ ont une énergie de 1,9 MeV.

Dans le mélange $^{144}_{58}Ce$ et $^{144}_{59}Pr$, l'ensemble de ces rayonnements est présent.

Les rayons β très énergiques de $^{144}_{59}Pr$ (2,98 MeV) constituent un moyen de détection et de mesure particulièrement favorable, à condition que l'équilibre séculaire soit établi entre le cérium 144 et son descendant. Cet équilibre est réalisé pratiquement deux heures après tout processus discriminatoire éventuel (l'équilibre est atteint à 99 % après écoulement de 7 périodes radioactives).

Schéma de décroissance de $^{144}_{58}Ce$ et de $^{144}_{59}Pr$. (figure 1).

V.S. Dzelepov et L.K. Peker [19] ont donné le schéma de désintégration suivant :

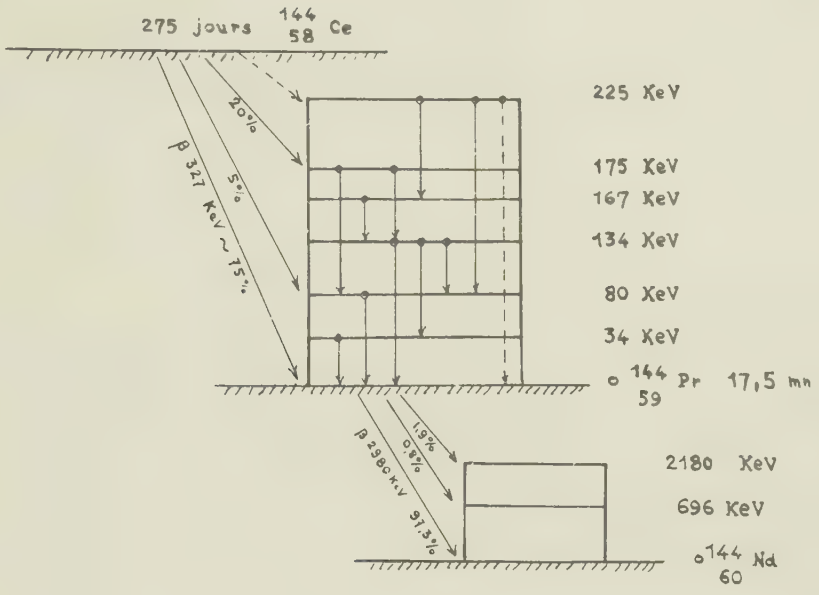


Figure 1 - Schéma de décroissance de $^{144}_{58}Ce$ et de $^{144}_{59}Pr$.

Ce schéma de décroissance ne fait pas état de l'émission alpha du néodyme 144 et indique une période de 275 jours pour le cérium 144 (ancienne valeur).

III

METABOLISME DU CÉRIUM 144 SANS ENTRAINEUR CHEZ L'ANIMAL

ANALYSE DES TRAVAUX PUBLIES.

La distribution du cérium dans l'organisme, après administration d'un sel soluble ou insoluble n'a pratiquement été étudiée chez les animaux de laboratoire que depuis une quinzaine d'années. L'emploi des radioisotopes a permis ces recherches en procurant un moyen de dosage commode.

Les travaux antérieurs à la découverte des radioisotopes ont eu pour but l'étude de la toxicité de différents sels de cette terre rare ; la dose toxique est de l'ordre de 10^{-5} g/g de tissu, après administration intra-veineuse chez le rat. L'analyse de certains tissus de l'organisme a décelé la présence, dans l'os en particulier, de traces de cérium stable : de l'ordre de 5.10^{-7} g par gramme de tissu, soit environ le centième de la concentration du cérium dans la croûte terrestre [37].

HISTORIQUE.

Un document de l'Atomic Energy Commission (Etats-Unis) a rassemblé en 1947 les études de Scott et de ses collaborateurs [54] sur le métabolisme des produits de fission chez le rat. Les isotopes utilisés, obtenus par bombardement de cibles diverses par les deutérons du cyclotron de Berkeley, sont préparés sans entraineur ("carrier free") par extraction chimique. Le cérium est obtenu par bombardement d'une cible d'uranium métallique et séparé chimiquement des autres produits de fission créés. Le cérium est administré par intra-péritonéale, intra-musculaire ou par intubation stomacale sous forme de solution de $CeCl_3$ à pH 2,5. La distribution du cérium dans les différents organes du rat ainsi que le taux d'excrétion par les fécès ont été étudiés en fonction du temps, pendant une période de 64 jours.

Ce travail a mis en évidence, pour ces différentes voies d'administration, une fixation importante du cérium dans le foie et dans le squelette. Parmi les autres tissus, seuls la rate et les reins retiennent une faible fraction de la dose initiale, pendant quelques jours après l'administration du cérium. De plus, dans le cas de la voie intra-péritonéale, Scott et coll. ont constaté une rétention d'importance variable sur tous les organes de la cavité abdominale et même dans les poumons, fixation attribuée par ces auteurs à une adsorption à la surface de ces différents organes.

Hamilton [27] et [28] la même année, donne quelques précisions sur les localisations osseuses du cérium, montrant par autoradiographie de coupes d'os non décalcifié, une accumulation du cérium, importante dans l'os trabéculaire, faible dans la corticale, faisant penser à un dépôt dans la matrice ostéoide. Hamilton constate que la distribution du cérium dans l'os ne se modifie pas pendant un an. Après inhalation d'aérosol de cérium, il constate une rétention importante au niveau des alvéoles pulmonaires. Cet auteur signale que la quantité de cérium fixée par gramme de rate est très inférieure à celle fixée par gramme de foie. Il constate que ces faits ne correspondent pas à un comportement colloïdal du cérium dans le sang, mais ne propose aucune explication de ce fait expérimental.

Abrams [1], Seibert et Abrams [55] étudient la distribution du cérium dans les poumons et dans les différents organes après inhalation d'un sel soluble ($CeCl_3$) ou d'un oxyde insoluble (CeO_2). Ils constatent une rétention prolongée dans les poumons dans les deux cas, la résorption atteignant 25 % de la dose inhalée, même dans le cas de l'oxyde de cérium.

La fraction résorbée au niveau des poumons se répartit dans le foie et dans le squelette d'une

façon comparable à celle consécutive à une injection intra-veineuse. Le foie présente un maximum de fixation vers le 5ème ou le 6ème jour (9 à 11 %) tandis que la fixation dans le squelette se poursuit pendant 56 jours pour atteindre 25 % de la dose résorbée.

Parallèlement à ces travaux, menés en grande partie à Oak-Ridge, un groupe de chercheurs d'Argonne National Laboratory étudie la radiotoxicité des terres rares. Par suite de difficultés rencontrées dans la séparation chimique des terres rares, seuls l'yttrium 91 et le cérium 144 sont utilisés. Le cérium 144 sans entraineur est administré sous forme de $CeCl_3$ en solution saline à pH 3-4 par voie veineuse chez le rat. La plupart des résultats ont été publiés entre 1945 et 1955 dans des rapports difficilement accessibles, mais en 1955, à l'occasion d'une conférence à Oak-Ridge, Norris [41] a fait état des résultats acquis pendant cette période. En 1947, Anthony et Lathrop [4] montrent que, dans ces conditions expérimentales, des lésions hépatiques surviennent chez le rat après administration par voie veineuse de 1 à 2 µc de cérium 144 par gramme de poids corporel. Ces lésions provoquent la mort chez la plupart des rats. La survie est inférieure à 30 jours pour tous les animaux ayant reçu une dose de 5 µc/g de poids corporel. La dose léthale 50 % 30 jours (DL 50/30) est fixée, pour le rat, à 2 ou 3 µc/g de poids corporel. La mort survient du fait des lésions hépatiques. La dose toxique de 5 µc/g correspond à $1,5.10^{-9}$ g de cérium 144. La dose toxique de cérium stable, dans les mêmes conditions expérimentales, est de l'ordre de 4 à 10.10^{-6} g de cérium par gramme de tissu. Les lésions constatées sont donc bien le fait des propriétés radioactives du cérium 144 et non celui d'une intoxication chimique par cet élément.

Ces divers résultats, bien que fragmentaires, ont été utilisés pour déterminer, en première approximation, les concentrations maxima admissibles dans l'air et dans l'eau de boisson, pour l'homme.

En 1950, Kawin et ses collaborateurs [31], étudient la répartition du cérium chez le rat après injection intra-veineuse de cérium 144-praséodyme 144 sans entraineur, en solution à 0,01 % de citrate de sodium à pH 6.

Schubert J. [46] en 1951, estime que, six mois après l'administration de cérium 144, 35 % sont retenus par l'organisme. L'excrétion est assurée par les fécès. Il fixe la quantité maxima admissible dans l'organisme humain à 0,3 µc en admettant cependant une rétention totale en tenant compte de la décroissance radioactive.

En 1954, lorsque nous avons entrepris l'étude du métabolisme du cérium 144 sans entraineur, les données expérimentales étaient encore très fragmentaires ; en particulier, la répartition du cérium 144 après injection intra-veineuse était mal connue. Aucune étude sur le mode de transport du cérium 144 dans le sang n'avait été publiée.

De nouveaux résultats expérimentaux font l'objet de quelques publications après 1954.

P.W. Durbin et ses collaborateurs [16-17] et [18] étudient le métabolisme du cérium 144 sans entraineur dans le cadre d'une étude d'ensemble sur le métabolisme des différents lanthanides. Le cérium 144 est administré sous forme de complexe citrique obtenu par addition d'une solution de citrate de sodium à une solution de chlorure de cérium sans entraineur dans le rapport molaire 1000/1, pensant éviter ainsi la formation d'agrégats de dimensions supérieures à celles des cristalloïdes. Les voies intra-musculaire [16-17] et intra-veineuse [18] sont successivement utilisées. L'évolution de la radioactivité du sang, du foie et du squelette est étudiée pendant une période de quatre heures après l'administration du radioélément.

Foreman et Finnegan vers 1956 [22] utilisent du $CeCl_3$ (cérium 144 sans entraineur) dans une solution de citrate (0,5 %) à pH 5. Ils étudient la répartition le quatrième jour après l'injection intra-veineuse, l'élimination urinaire et fécale durant ce laps de temps, mais envisagent surtout les modifications apportées à cette distribution après administration d'acide éthylénediamitétra-acétique (EDTA).

Norris [41] présente les résultats acquis par l'équipe de Argonne National Laboratory. Les animaux d'Anthony et Lathrop [4] sont utilisés à leur mort pour préciser la répartition du cérium injecté. Il peut ainsi donner la courbe d'élimination fécale pendant 40 jours et les courbes de rétention dans le squelette et dans le foie pendant 240 jours.

Jowsey et ses collaborateurs [30] étudient chez le chien la répartition du cérium 144 ($CeCl_3$) sans entraineur, de 24 heures à 7 jours après administration intra-péritonéale. Ils constatent en particulier une répartition non homogène entre les différentes parties du squelette.

Alors que ce travail était en cours, Catsch et ses collaborateurs [10] ont publié la première partie d'une étude d'ensemble sur les possibilités thérapeutiques offertes par de nombreux produits dans les cas d'empoisonnement par les produits de fission. Ils envisagent en particulier le traite-

ment après administration de cérium 144 par voie intra-veineuse à des rats (solution de $CeCl_3$ "pratiquement" sans entraineur, 1 mc/mg, en soluté physiologique). Ils étudient chez les rats témoins, la répartition, 48 heures après l'injection, du cérium dans le foie, les reins et le squelette. Ils constatent une dispersion anormale entre les différentes séries de rats étudiées. Nous reviendrons plus loin sur ces résultats.

Kutzim [36] étudiant la résorption de phosphates métalliques en suspension dans une solution de Périston (polyvinylpyrrolidone) à 1 %, après injection sous cutanée, constate qu'une fraction non négligeable de phosphate de cérium (20 % le 14ème jour) est retrouvée dans les divers organes : foie, squelette et muscles.

Au cours d'expériences préliminaires en 1954, nous avons étudié la répartition du cérium radioactif, $^{144}_{58}Ce$, sans entraineur, chez la souris après injection intra-veineuse, d'une solution de chlorure de cérium à pH compris entre 4 et 6, en soluté physiologique NaCl à 9 ‰.

Nos résultats ont montré une dispersion importante dans toutes les séries d'animaux : les variations individuelles sont particulièrement nettes pendant les premières heures après l'injection. D'autre part, l'utilisation d'une solution à pH inférieur à 4 ou supérieur à 6 conduit à une distribution quantitativement différente dans les organes fixateurs, foie, squelette, reins et rate.

Les données acquises par tous ces travaux permettent de fixer les grandes lignes du devenir du cérium 144 après administration à un organisme animal.

DISTRIBUTION DU CERIUM 144 DANS L'ORGANISME.

Quels que soient le mode d'administration du cérium sans entraineur et la nature du sel utilisé (sel soluble ou insoluble, complexe ou chélate), le cérium se localise dans un premier temps dans le foie et dans le squelette. Le taux de fixation dans ces organes est variable suivant les conditions expérimentales. La fraction de la dose absorbée après injection locale est fonction de la voie d'administration ; cette fraction absorbée est rapidement répartie dans les organes cibles, foie et tissu osseux.

Cette phase de *distribution initiale* est réalisée en quelques heures après administration par voie veineuse. 60 à 80 % de la dose injectée sont retenus par le foie. Le squelette fixe 10 à 25 % du cérium administré. La radioactivité du sang circulant décroit plus ou moins rapidement et en quelques heures, elle est devenue négligeable.

10 à 15 % de la dose injectée sont retrouvés dans d'autres tissus : peau, muscles, tube digestif, reins et rate, lorsque les animaux sont sacrifiés précocement après l'injection (30 minutes par exemple). Passé ce délai, seuls la rate et les reins retiennent 0,5 à 2 % du cérium injecté. Cependant, chez quelques animaux, la rétention dans les muscles paraît se prolonger pendant 24 heures.

Immédiatement après la phase de distribution initiale prend place une *phase de redistribution*.

Le cérium fixé dans le foie commence à quitter cet organe quelques heures (on peut être même déjà au cours de la phase de distribution initiale) après l'administration du cérium. Il en est de même du cérium retenu dans les différents tissus ou viscères autres que le tissu osseux : 24 heures après l'injection veineuse, la majorité des tissus (autres que le foie, le squelette, la rate et les reins) ne contient pratiquement plus de cérium. Les reins et la rate (d'une façon inconstante), les poumons dans certains cas, retiennent 1 à 2 % de la dose injectée.

Le cérium libéré par le foie et par les tissus est soit excrété dans les fécès soit fixé secondairement par le squelette dans des proportions variables. La décroissance dans le foie est plus ou moins rapide : la période biologique pour cet organe a été fixée à 10-20 jours par les auteurs américains. Nos résultats expérimentaux, après injection de nitrate de cérium à pH 4 chez le rat, nous ont montré que l'élimination du cérium hépatique était complexe : après une période d'élimination rapide persistant pendant 2 à 3 semaines (période de 5 jours), le cérium quitte le foie beaucoup plus lentement (période de 40 à 60 jours) et vers le 120ème jour, il ne reste dans le foie que 0,1 à 0,5 % du cérium injecté.

La fixation dans l'os est lente et continue. Elle se prolonge tant que le foie libère du cérium. Elle atteint 30 à 40 % de la dose injectée le 30ème jour, alors que le foie ne contient plus que 1 à 3 % de cette dose.

Le sang, au cours de cette période, transporte une très faible quantité de la dose initiale,

d'une façon permanente. Le rein et la rate paraissent éliminer très lentement les quelques pourcents fixés à l'origine.

Notons que la répartition entre les selles et le squelette du cérium libéré par le foie, n'est pas uniforme chez les différents animaux. Si la fraction éliminée par les fécès est toujours plus importante que celle fixée par le squelette, le rapport entre ces deux quantités varie dans de larges limites d'un animal à l'autre.

Phase osseuse. Le squelette reste pratiquement le seul réservoir de cérium dans l'organisme, à partir du 20-25ème jour. Les auteurs américains ont constaté un taux d'élimination très faible du cérium fixé dans l'os : la période biologique serait de l'ordre de 200 à 500 jours. Le cérium quittant le squelette est éliminé par les fécès.

DISCUSSION.

Ce tableau de la distribution du cérium 144 sans entraineur dans l'organisme après injection intra-veineuse, représente une première approximation tirée de l'ensemble des résultats publiés et de nos travaux.

Cependant l'examen attentif des données expérimentales fait apparaitre des divergences nombreuses, soit dans les taux de fixation dans les différents organes, soit dans la cinétique des modifications se produisant secondairement, soit dans l'importance de la fraction excrétée.

Certaines de ces divergences peuvent être d'origine purement physiologique, le nombre d'animaux habituellement utilisé étant insuffisant pour espérer atténuer les variations individuelles et conduire à des moyennes statistiquement valables.

Elles proviennent pour la plupart, de l'intervention de facteurs dont il n'a pas toujours été tenu compte.

La distribution d'un radioélément quelconque dans l'organisme, et en particulier d'un radioélément sans entraineur est fonction, entre autre, de la nature chimique du sel administré (sel soluble, complexe ou chélate). Intervient également l'état physico-chimique sous lequel le radioélément est injecté : la plupart des éléments des terres rares présentent la propriété de former des hydroxydes insolubles à certains pH et en particulier à des pH voisins du pH physiologique. Il a été reconnu d'autre part que, aux concentrations correspondant à l'utilisation d'un radioélément sans entraineur (de 10^{-8} à 10^{-12} M suivant l'élément), le pH de précipitation de l'hydroxyde des terres rares est abaissé de 1,5 à 2 unités pH.

Le cérium trivalent, sans entraineur, est un élément pour lequel ces facteurs interviennent pleinement : physiologiquement inactif, il possède la propriété de se complexer avec certaines molécules organiques (telles que les acides nucléiques) ; l'hydroxyde céreux se forme à pH 7,4 à concentration molaire 10^{-2}.

Les chercheurs ayant utilisé des solutions diluées de cérium trivalent ($CeCl_3$) ont constaté l'instabilité de ces solutions, même à des pH inférieurs à 5. Cette remarque a conduit certains d'entre eux à utiliser des solutions de sel céreux dans du citrate de sodium, formant ainsi un complexe stabilisant la solution. Cependant, les résultats obtenus ne reflètent pas nécessairement le devenir du cérium administré sous forme de sel minéral.

Au cours de nos expériences préliminaires, nous avons également constaté l'instabilité des solutions de nitrate et de chlorure de cérium que nous avons utilisées (pH compris entre 4 et 6).

Les données expérimentales sur le mode de transport du cérium dans le sang sont très fragmentaires et d'interprétation difficile. L'hypothèse du comportement colloïdal du cérium dans le sang, quelle que soit la nature du sel injecté, n'a fait l'objet d'aucune vérification expérimentale. Elle est admise par les différents auteurs par extrapolation de résultats obtenus avec d'autres terres rares. Elle ne permet pas d'expliquer en particulier les résultats de P.W. Durbin [18] qui suggèrent l'existence d'une liaison protéine-métal dans le sang.

Tous ces travaux n'établissent aucun lien entre l'état physico-chimique du cérium 144 dans les solutions administrées et le devenir ultérieur de ce produit de fission dans l'organisme.

Nous avons pensé que les différences dans le mode de transport dans le sang et dans les taux de fixation dans les différents organes que nous avons constatées au cours de nos expériences préliminaires, en fonction du pH de la solution administrée, étaient liées directement à l'état ionique ou colloïdal du cérium dans les solutions injectées.

L'étude de l'état physico-chimique du cérium en solution diluée, celle du mode de transport et de la distribution du cérium dans l'organisme, en fonction de cet état, pouvait donc apporter des informations intéressantes permettant une meilleure compréhension des mécanismes biologiques mis en jeu par l'organisme au cours d'une radiointoxication par le cérium 144. La connaissance de ces mécanismes étant indispensable pour l'établissement d'une thérapeutique appropriée, ces études présentaient d'autre part un intérêt pratique certain.

PREMIÈRE PARTIE

ÉTAT PHYSICO-CHIMIQUE DES SOLUTIONS DE CÉRIUM 144 SANS ENTRAINEUR

I

INTRODUCTION

Paneth en 1912 [44], au cours de ses recherches sur la séparation des radioéléments naturels a constaté que le radium E (bismuth 210) et le polonium ne diffusaient pas à travers le parchemin en solution neutre ou alcaline, à des concentrations inférieures à 10^{-8} M : ces éléments se comportent comme des colloïdes et Paneth les appela "radiocolloïdes". Depuis cette constatation, de nombreux auteurs ont étudié le comportement des solutions très diluées des radioéléments naturels et artificiels. En particulier, Haissinsky en France [24] a étudié les variations du caractère colloïdal du polonium et du bismuth en fonction du pH.

Il a été rapidement reconnu que le comportement colloïdal était le fait de l'extrême dilution de l'élément et non le fait de ses propriétés radioactives. Le terme "radiocolloïde" a cependant été conservé malgré son impropriété.

Ce comportement a été constaté chez un grand nombre de radioéléments artificiels et l'instabilité des solutions aqueuses d'un sel de cérium trivalent et d'un anion fortement basique (Cl^- et NO_3^- en particulier), aux pH physiologiques ou légèrement acides, a été rattachée à ce comportement.

Kurbatov et Kurbatov [34], Schweitzer et ses collaborateurs dans de nombreux travaux [48 à 53], ont étudié les propriétés radiocolloïdales du lanthane 140, de l'yttrium 90, précisant le rôle du pH, de la concentration, des électrolytes et des agents complexants dans la formation de colloïdes.

Schweitzer et Jackson [50] ont montré pour le lanthane 140 sans entraineur à concentration molaire 10^{-12} que la précipitation de $La(OH)_3$ débutait à pH 2, atteignait 100 % à pH 6, la fraction colloïdale augmentant régulièrement en fonction du pH dans la zone des pH comprise entre 2 et 6. A concentration molaire 10^{-2}, l'hydroxyde de lanthane précipite à pH 7.

Ces divers travaux ont montré que, en solution très diluée, la précipitation des hydroxydes de terres rares se produit à des pH inférieurs de 1,5 à 2 unités au pH de précipitation connu pour les solutions peu diluées ($\simeq 10^{-2}$ M).

Kurbatov et Pool [35] ont constaté le comportement colloïdal du cérium en solution extrêmement diluée (1944). Par analogie avec les autres terres rares, la formation de l'hydroxyde céreux colloïdal débuterait à pH 5 environ.

La nature colloïdale des différents éléments en solution très diluée, à des concentrations molaires de l'ordre de 10^{-8} à 10^{-10} à été étudiée au moyen de nombreuses méthodes : filtration, centrifugation, dialyse, mesure du coefficient de diffusion, mobilité électrophorétique, fixation différentielle sur des colonnes échangeuses d'ions. Chamie en 1927 [11] utilisant une méthode autoradiographique, a prouvé l'existence d'amas de polonium dans les solutions aqueuses voisines de la neutralité. G. Bouissières et coll. [6] en 1947, par une méthode analogue, étudient le comportement du polonium dans l'eau distillée, dans l'alcool absolu et dans l'acétone anhydre à une concentration de l'ordre de 5.10^9 atomes par millilitre. Ils montrent l'existence, dans les solutions aqueuses, d'amas de polonium, le nombre d'atomes par amas augmentant dans de fortes proportions dans les solutions agées de trois jours par rapport aux solutions fraîchement préparées.

Ces différentes méthodes sont qualitatives ou semi-quantitatives et n'apportent aucun renseignement sur la cinétique de la formation du colloïde ou sur son comportement.

Nous avons pensé qu'il serait possible d'étudier la stabilité d'une solution très diluée d'un élément radioactif par la mesure de l'accroissement de la radioactivité au fond d'un récipient la contenant, lorsque la solution est soumise à l'action de la pesanteur. Nous avons appliqué cette méthode à l'étude des solutions très diluées de différents sels de cérium trivalent, utilisant le cérium 144 sans entraineur.

II

EXPÉRIMENTATION

METHODE D'ETUDE DES RADIOCOLLOIDES.

1/ Principe et bases théoriques.

Soit un flacon cylindrique à fond plat, d'épaisseur connue contenant la solution à étudier d'un radioélément émetteur béta pur, sans entraineur, disposé au-dessus d'un compteur de Geiger-Müller type compteur cloche, la fenêtre étant dirigée vers le haut.

Dans ces conditions, ne parviennent au compteur que les béta émis par les noyaux situés dans une couche d'épaisseur finie, voisine du fond du flacon. L'épaisseur de cette couche est fonction de l'énergie maximum des rayons β émis et de l'importance des écrans traversés : (couche liquidienne, fond du flacon, couche d'air intermédiaire et fenêtre du compteur). Le rendement de comptage (rapport du nombre de rayons béta détectés au nombre de rayons béta émis) est une fonction complexe de la géométrie de l'ensemble expérimental, de la répartition des noyaux émetteurs dans la couche définie ci-dessus, du spectre énergétique des béta émis, de l'épaisseur des divers écrans et du rendement propre du compteur.

Toute sédimentation de la solution se traduit par l'accroissement du nombre de noyaux émetteurs situés dans la couche au voisinage du fond du flacon, et provoque une augmentation de la radioactivité mesurée. L'étude de l'évolution de celle-ci en fonction du temps permet de suivre la sédimentation.

1) Soit un milieu dispersé dans lequel la phase dispersée renfermant tous les noyaux radioactifs, sédimente en totalité en un temps t. Supposons que les micelles constituant la phase dispersée soient toutes identiques et que leur dimension ne varie pas au cours de la sédimentation. Le radioélément utilisé étant sans entraineur, le nombre de micelles est très petit par rapport au nombre total des molécules de la phase non dispersée. Le volume occupé par la phase dispersée est également très petit par rapport au volume total. Nous fixons les conditions expérimentales pour que l'épaisseur de la couche à partir de laquelle les rayons béta émis sont détectés par le compteur, soit grande par rapport à celle des micelles radioactives rassemblées uniformément au fond du flacon.

Soit μ le nombre de noyaux radioactifs par unité de volume de la suspension au temps initial t_0, la répartition étant supposée homogène.

v la vitesse de chute des micelles,

N_0 le nombre de noyaux radioactifs existant au temps t_0 dans la couche mesurée.

α le facteur constant tel que $N_0 \alpha$ soit le nombre de rayons β émis par unités de temps par N_0 noyaux du radioélément,

k le rendement de comptage pour les rayons β issus des noyaux répartis dans la couche mesurée,

k' le rendement de comptage pour les rayons β issus des noyaux répartis sur le fond du flacon, k' est plus grand que k par suite de l'augmentation de l'angle solide et de l'accroissement du nombre de rayons β émis détectés par le compteur.

Au temps t_0 la radioactivité mesurée R_0 est :

$$R_0 = k N_0 \alpha$$

Si tous les noyaux de la couche mesurée sont répartis sur le fond du flacon, la radioactivité mesurée devient :

$$R'_0 = k' N_0 \alpha$$

Au cours de la sédimentation, un état de régime s'établit et pendant l'intervalle de temps dt, dN noyaux radioactifs provenant d'une couche d'épaisseur dl immédiatement sus-jacente à la couche mesurée, pénètrent dans celle-ci. L'accroissement de la radioactivité mesurée, pendant l'intervalle dt, provient des particules déposées au fond du flacon, comptées avec le rendement de comptage k'. On a :

$$\frac{dR}{dt} = \beta k' \frac{dN}{dt}$$

avec :

$$\frac{dN}{dt} = \mu S \frac{dl}{dt} = \mu S v$$

S étant la surface du flacon.

d'où :

$$\frac{dR}{dt} = \alpha k' \mu S v \qquad (1)$$

Lorsque toutes les particules ont sédimenté, la radioactivité finale mesurée est :

$$R_{100} = \alpha k' \mu V = k' N \alpha \qquad (2)$$

N étant le nombre total de noyaux radioactifs existant dans la solution de volume V.

(L'indice 100 est utilisé lorsque la sédimentation est totale).

Dans ces conditions, la radioactivité mesurée varie linéairement avec le temps pendant toute la phase de régime. Ce mode d'expression n'est valable que pour les solutions très diluées pour lesquelles, du fait du nombre très réduit de particules constituant la phase dispersée, le gradient de concentration n'apparaît que dans la partie inférieure de la couche de liquide voisine du fond du flacon.

Les courbes expérimentales permettent d'atteindre R_{100}, radioactivité mesurée en fin de sédimentation et $\frac{dR}{dt}$ pente de la partie linéaire de la courbe. La relation (2) permet de déterminer le facteur constant ($\alpha k' \mu$) et la relation (1) permet de calculer la vitesse de chute des particules connaissant la pente de la courbe expérimentale, le facteur ($\alpha k' \mu$) et S la surface du flacon.

2) Lorsqu'une fraction (f) seulement des noyaux radioactifs de la suspension est susceptible de sédimenter, μ étant toujours le nombre de noyaux radioactifs par unité de volume de la suspension, (1-f) noyaux restent en suspension et $\frac{dR}{dt}$ devient :

$$\frac{dR}{dt} = \alpha k' \mu f S v \qquad (3)$$

et la radioactivité finale mesurée devient :

$$R_f = R_0 (1-f) + \alpha k' \mu f V \qquad (4)$$

$R_0 (1-f)$ représente la radioactivité mesurée due à la fraction non sédimentée de la couche contiguë au fond du flacon et $\alpha k' \mu f V$, la radioactivité mesurée due à la totalité des noyaux radioactifs du volume V de la solution ayant sédimenté.

La relation (4) permet de calculer (f), fraction des noyaux radioactifs susceptibles de sédimenter dans les conditions de l'expérience, connaissant $\alpha k' \mu$.

Portant (2) dans (4), on obtient :

$$R_f = R_0 (1-f) + R_{100} f$$

et :

$$f = \frac{R_f - R_0}{R_{100} - R_0} \qquad (5)$$

En effet, α, k' et μ sont indépendants de l'état physico-chimique, dispersés ou en solution, des atomes radioactifs.

Remarques.

1) Dans le cas du cérium 144 sans entraineur, $^{144}_{58}Ce$ est en équilibre radioactif avec son descendant $^{144}_{59}Pr$. Ce dernier émet 97 % de rayons β d'énergie maximum 2,98 MeV. Les β du cérium 144 sont beaucoup plus mous (0,30 MeV maximum). Les β détectés par le compteur sont ceux de parcours supérieur à l'épaisseur totale des écrans : tous les β du cérium sont absorbés et seuls les β du praséodyme ayant une énergie supérieure à une valeur minimum sont détectés.

2) Les rayons γ émis par le mélange $^{144}_{58}Ce$ - $^{144}_{59}Pr$ sont pour la plupart de faible énergie. Le rendement de comptage du type de compteur utilisé pour les rayons γ est très faible. La fraction de la radioactivité mesurée due à ces rayons γ est très faible et peut être considérée comme constante en première approximation, quelle que soit la position du noyau émetteur au cours de la sédimentation. Dans ces conditions le mélange $^{144}_{58}Ce$ - $^{144}_{59}Pr$ peut être considéré comme émetteur béta pur.

3) Les relations établies précédemment diffèrent des relations classiques sur la sédimentation des milieux dispersés. Elles ne sont valables que dans le cas d'un radioélément sans entraineur. Dans le cas d'un radioélément avec entraineur, le nombre de noyaux de l'élément étudié présents dans la suspension n'est plus négligeable par rapport à celui des molécules du liquide intermicellaire. Un gradient de concentration s'établit sur toute la hauteur de la colonne de liquide, la variation de la radioactivité mesurée n'est plus une fonction linéaire pendant la plus grande partie de la sédimentation. Les facteurs μ et v ne peuvent plus être considérés comme constants et le rendement de comptage k prend une valeur k" mal définie.

2/ Dispositif expérimental.

Il se compose d'un flacon de 20 ml environ, à fond plat, mince, placé sur un support au-dessus d'un compteur cloche de Geiger-Müller, dont la fenêtre est dirigée vers le haut. Un écran de cuivre est interposé entre le compteur et le fond du flacon, afin de limiter à une valeur connue l'épaisseur de la couche de liquide dans laquelle les béta émis seront détectés.

Le dispositif de comptage est complété par une échelle de comptage, un intégrateur et un enregistreur sans dérive, permettant une étude continue pendant plusieurs heures.

Dans le dispositif utilisé, le fond du flacon a une épaisseur connue de l'ordre de un millimètre, l'écran de cuivre a une épaisseur de 1 mm (890 mg/cm²) et la fenêtre du compteur est de 1,9 mg/cm². Le parcours maximum des rayons β de 2,98 MeV est voisin de 1500 mg/cm². L'épaisseur de la couche de liquide à partir de laquelle les β émis sont détectés est de ce fait de l'ordre de 3,5 mm. Tous les rayons β d'énergie inférieure à 2,5 MeV sont absorbés par les écrans dont l'épaisseur totale est de l'ordre de 1250 mg/cm².

3/ Modalités expérimentales.

Les solutions étudiées sont obtenues par dilution dans de l'eau bidistillée à partir d'une solution mère de chlorure ou de nitrate de cérium sans entraineur. Elles sont ajustées au pH désiré par addition de soude décarbonatée. Le pH est mesuré à l'aide d'un dispositif électrométrique.

Les flacons contenant les solutions sont bouchés hermétiquement pendant toute la durée de l'expérience afin d'éviter tout contact avec le CO_2 atmosphérique. La gamme de pH étudiée s'étend de pH 2 à pH 12.

Pour certaines solutions, un enregistrement continu des variations du pH au cours de la sédimentation a été réalisé simultanément à l'enregistrement de la radioactivité.

Le flacon contenant la solution à étudier est agité, puis placé au-dessus du compteur et l'enregistrement de la radioactivité est poursuivi jusqu'à l'obtention d'un plateau. A la fin de l'enregistrement, le flacon est agité à nouveau, et la radioactivité est mesurée dans les mêmes conditions qu'au début de l'expérience.

L'enregistrement de la variation du pH de solutions fraîchement préparées nous ayant montré une variation continue de celle-ci, puis une stabilisation à une valeur constante, la courbe de sédimentation n'est enregistrée que lorsque le pH de la solution est stabilisé. Le temps de "mûrissement" des suspensions peut varier de deux à plusieurs jours.

La durée de l'enregistrement varie entre 20 et 48 heures. Les courbes obtenues lorsque le pH de la suspension étudiée est stable, sont reproductibles à plusieurs jours d'intervalle.

RESULTATS EXPERIMENTAUX.

Nous avons étudié des solutions de chlorure de cérium 144 sans entraineur et des solutions de nitrate de cérium 144 sans entraineur. Les auteurs américains ayant utilisé des complexes obtenus après addition de citrate de sodium, nous avons étudié le comportement de ces solutions et nous avons également étudié la sédimentation d'un phosphate de cérium obtenu après addition de phosphate de sodium à une solution de chlorure de cérium 144 sans entraineur.

1/ Chlorure de cérium sans entraineur.

Les courbes expérimentales obtenues par enregistrement continu pour différents pH compris entre 3,5 et 12 ont été rassemblées dans la figure 2.

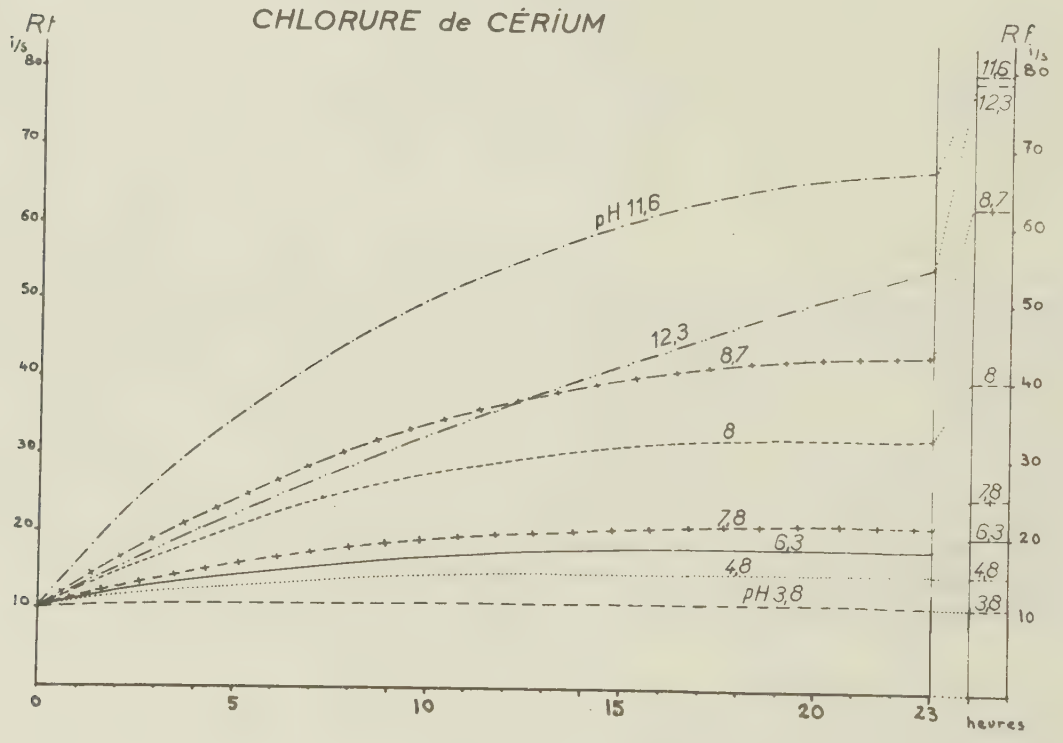


Figure 2 - Courbes de sédimentation.

Les temps sont portés en abscisses (en heures) ; en ordonnées (échelle de gauche) est portée la radioactivité mesurée R_t au temps t en impulsions par seconde, et sur l'échelle de droite, les valeurs finales R correspondant aux différentes solutions.

La figure 2 montre qu'une sédimentation se produit dans les solutions dont le pH est supérieur à 4,5. Les courbes obtenues ont des caractéristiques différentes pour chaque pH.

Les courbes permettent de définir, pour chaque pH, la radioactivité mesurée R en fin de sédimentation et la pente $\frac{dR}{dt}$ de la partie linéaire de la courbe de sédimentation. Ces données sont rassemblées dans le tableau II.

Tableau II.

Radioactivité finale et pente en fonction du pH
Chlorure de cérium sans entraineur.

pH	R (imp/sec)	Pente
3,8	10 (= R_0)	0
4,8	15	0,15
6,3	20	0,36
6,4	40	- (1)
6,8	67	- (1)
6,9	25	0,43
7,2	15	- (1)
7,8	25	0,50
8	40	1,36
8,7	63	2,7
11,6	80	4,2
12,3	79	3,3
12,3 (+)	62	3,1

(+) solution de soude carbonatée,

(1) pour ces valeurs de pH, seul R a été déterminée.

2/ Nitrate de cérium sans entraineur.

Un ensemble de courbes analogues aux précédentes est obtenu pour les solutions de nitrate de cérium sans entraineur (figure 3).

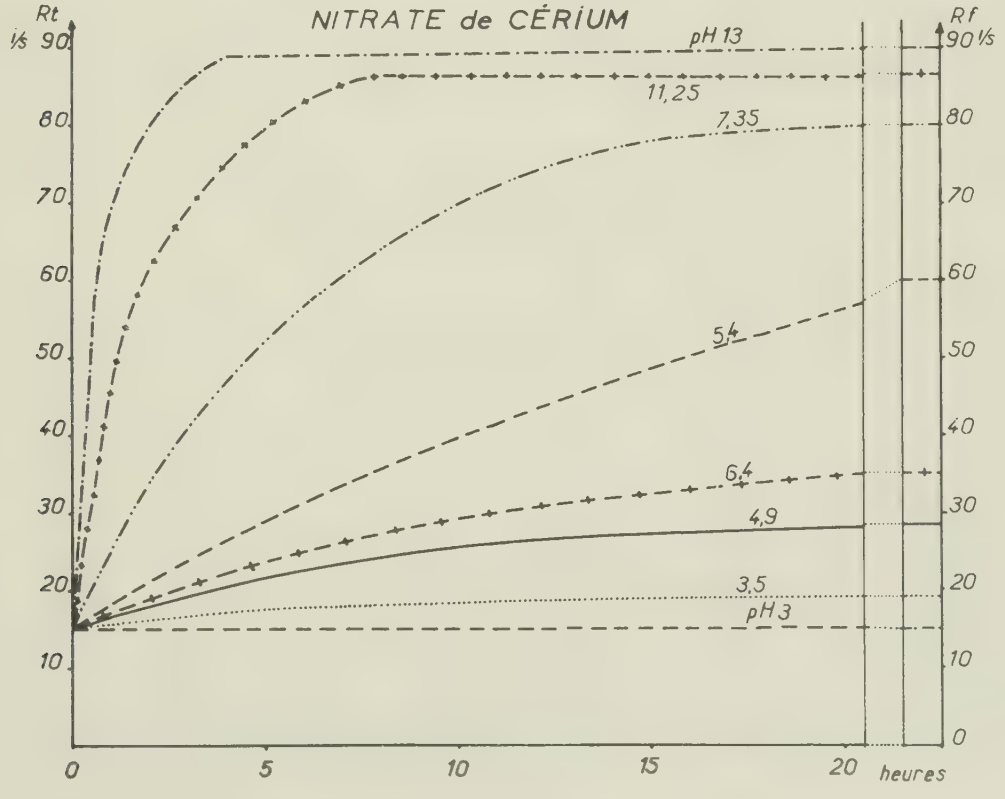


Figure 3 - Courbes de sédimentation. - Nitrate de cérium sans entraineur.

Pour les pH inférieurs à 2,6, aucune variation de la radioactivité initiale R_0 n'est constatée. Pour les pH supérieurs à 3, les courbes obtenues sont de même type que les courbes des solutions de chlorure de Cérium mais la partie linéaire des courbes est moins nette, en particulier pour celles relatives à des pH compris entre 6,4 et 7,5.

Le tableau III indique, pour chaque pH, les valeurs finales de la radioactivité mesurée et les pentes de la portion linéaire des courbes de sédimentation.

Tableau III

Radioactivité finale et pente en fonction du pH.
Nitrate de cérium sans entraineur.

pH	R (imp/sec)	Pente
3	15 (= R_0)	0
3,5	18	0,07
4,5	23	-
4,9	27	0,4
5,2	40	-
5,35	60	2,5
5,4	87	-
5,6	40	-
5,8	22	-
6,4	33	-
6,5	41	0,85
6,7	64	3
7,35	80	2,1
7,5	84	-
11,25	87	20
13	89	34

3/ Autres sels de cérium.

a) Citrate de cérium : Dans une solution de chlorure de cérium sans entraineur, nous avons ajouté, dans les conditions préconisées par les auteurs américains, une solution de citrate de sodium à 0,5 %.

Dans la gamme des pH étudiée (entre 6 et 8) aucune modification de la radioactivité initiale n'est constatée.

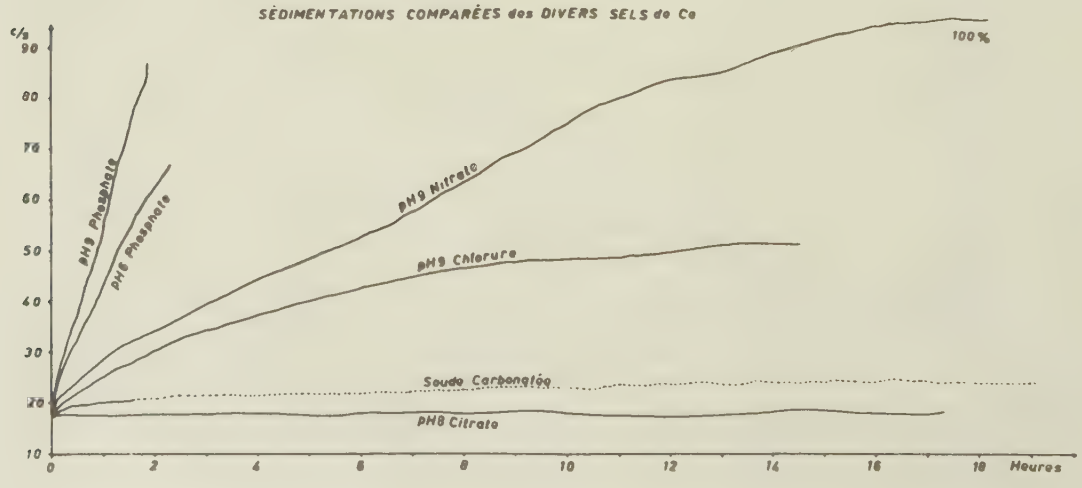


Figure 4 - Courbes de sédimentation de différents sels de cérium.

b) Phosphate de cérium : Une solution de phosphate de sodium est ajoutée à la solution de chlorure de cérium sans entraineur. La solution est amenée à pH 6 ou 9.

Une sédimentation très rapide est constatée ; elle est totale en deux heures.

Les différentes courbes de sédimentation obtenues ont été rassemblées en partie dans la figure 4, dans laquelle les courbes de sédimentation du chlorure et du nitrate de cérium sans entraineur à pH 9 ont été reportées à titre de comparaison.

INTERPRETATION DES COURBES EXPERIMENTALES.

1/ Détermination de la fraction sédimentée.

Les données numériques des tableaux II et III permettent de déterminer l'importance de la fraction sédimentée en fonction du pH, par application de la relation (5) (p.20) R_{100} est déterminé par la radioactivité finale de la courbe traduisant la sédimentation maximum soit :

R_{100} = 80 pour les chlorures (pH 11,6)

R_{100} = 89 pour les nitrates (pH 13)

Nous avons vérifié que cette valeur correspondait bien à la sédimentation de la totalité des atomes radioactifs présents dans la solution :

a) par la mesure de la radioactivité résiduelle à différents niveaux de la colonne de liquide en fin de sédimentation,

b) par le calcul de la radioactivité théorique qui devrait être mesurée si tous les atomes radioactifs de la solution étaient répartis au fond du flacon, tenant compte de la variation du rendement de comptage,

R_0 est constant pour toutes les courbes d'un même sel. R_0 est égal à 10 dans le cas des chlorures et à 15 dans le cas des nitrates, en impulsions/seconde.

Les valeurs obtenues pour f (fraction sédimentée) exprimées en % des atomes radioactifs de la solution, sont rassemblées dans le tableau IV pour les solutions de chlorure de cérium et dans le tableau V pour celles de nitrate sans entraineur.

Tableau IV

Fraction sédimentée en fonction du pH.
Chlorure de cérium sans entraineur.

pH	$R_f - R_0$	$f = \frac{R_f - R_0}{R_{100} - R_0} \times 100$
3,8	0	0
4,8	5	7,1
6,3	10	14,3
6,4	30	43
6,8	57	84
6,9	15	21
7,2	5	7,1
7,8	15	21
8	30	43
8,7	53	76
11,6	70	100
12,3	69	98
12,3 (+)	52	74

(+) solution de soude carbonatée.

Les figures 5 et 6 représentent les variations de la fraction sédimentée f en fonction du pH. Ces variations complexes seront discutées plus loin.

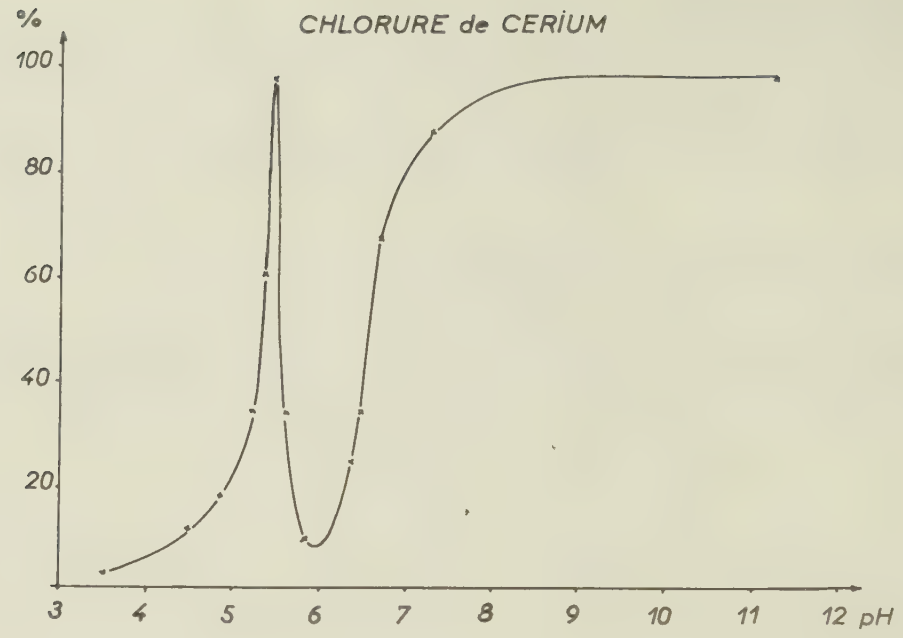


Figure 5 - Fraction sédimentée en fonction du pH. - Chlorure de cérium sans entraineur.

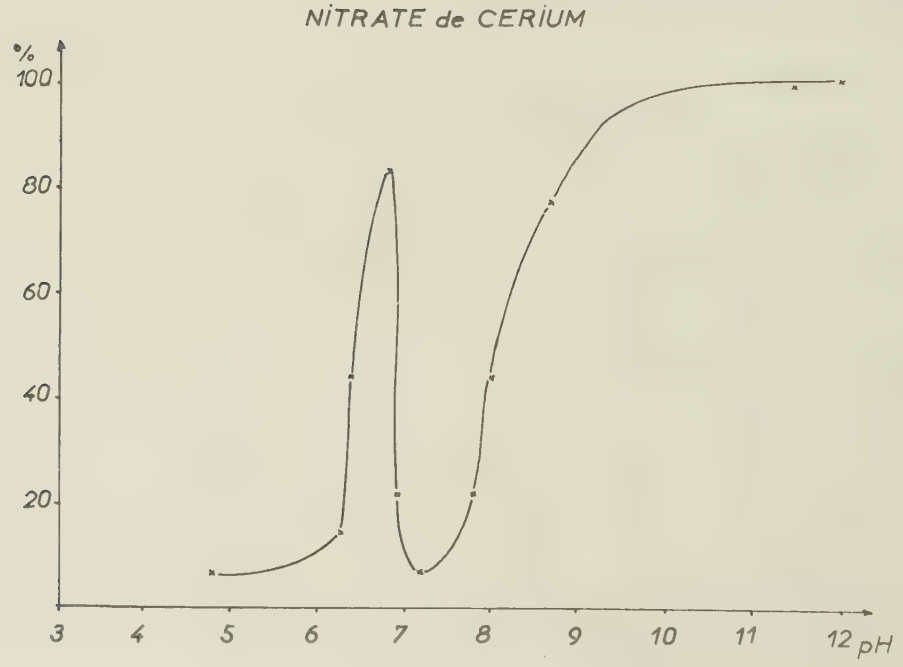


Figure 6 - Fraction sédimentée en fonction du pH. - Nitrate de cérium sans entraineur.

Tableau V

Fraction sédimentée en fonction du pH.
Nitrate de cérium sans entraineur.

pH	$R_f - R_o$	$f = \frac{R_f - R_o}{R_{100} - R_o} \times 100$
3,5	3	4
4,5	8	11
4,9	12	16
5,2	25	34
5,35	45	60
5,4	72	97
5,6	25	34
5,8	7	9
6,4	18	24
6,5	26	34
6,7	49	66
7,35	65	87
11,25	72	97
13	74	99

2/ Cinétique de la sédimentation.

Les courbes de sédimentation permettent d'obtenir des renseignements sur la vitesse de chute des particules de la phase dispersée, et par là, sur les dimensions relatives des micelles colloïdales.

De la relation (2) (p.20) :

$$R_{100} = \alpha k' \mu V$$

on tire :

$$\alpha k' \mu = \frac{R_{100}}{V}$$

Remplaçons $\alpha k' \mu$ par cette valeur dans (1) (p.20), nous avons :

$$\frac{dR_{100}}{dt} = \frac{R_{100}}{V} \times S\, v_{100}$$

v_{100} étant la vitesse de chute des particules d'une suspension dans laquelle tous les atomes radioactifs appartiennent à la phase dispersée sédimentable.

$\frac{dR_{100}}{dt}$ est la pente de la partie linéaire de la courbe de sédimentation, d'où :

$$v_{100} = \text{pente}_{(100)} \cdot 1 \frac{1}{R_{100}}$$

Dans le cas où une fraction f seulement est sédimentable :

$$\frac{dR_f}{dt} = \text{pente}_{(f)} = \frac{R_{100}}{V} fS v_f$$

et :

$$\frac{v_f}{v_{100}} = \frac{\text{pente}_{(f)}}{\text{pente}_{(100)}} \times \frac{1}{f}$$

$\frac{v_f}{v_{100}}$ exprime la vitesse de chute des particules de la solution (f) en fonction de la vitesse de chute des micelles les plus rapides.

Les tableaux VI et VII indiquent les variations du rapport v_f / v_{100} en fonction du pH pour les deux sels étudiés. Une valeur approchée de la vitesse de chute des différentes particules a été calculée, connaissant le temps de sédimentation totale et la hauteur de la colonne de liquide, pour les particules les plus rapides. La sédimentation est totale en 15 heures pour la solution de chlorure de cérium à pH 11,6 et elle nécessite 2 heures 15 dans le cas de la solution de nitrate à pH 13 ; les vitesses de chute des particules peuvent être estimées à 2 mm par heure dans le premier cas et à 13,5 mm par heure dans le second.

Tableau VI

Vitesse de chute en fonction du pH.
Chlorure de cérium sans entraineur.

pH	pente	f	v_f / v_{100}	v (mm/h)
4,8	0,15	7,1	0,49	1
6,3	0,36	14,3	0,60	1,2
6,9	0,43	21	0,48	0,96
7,8	0,50	21	0,57	1,14
8	1,36	43	0,75	1,5
8,7	2,7	76	0,86	1,7
11,6	4,2	100	1	2

Les figures 7 et 8 représentent les vitesses de chute en fonction du pH pour les solutions étudiées.

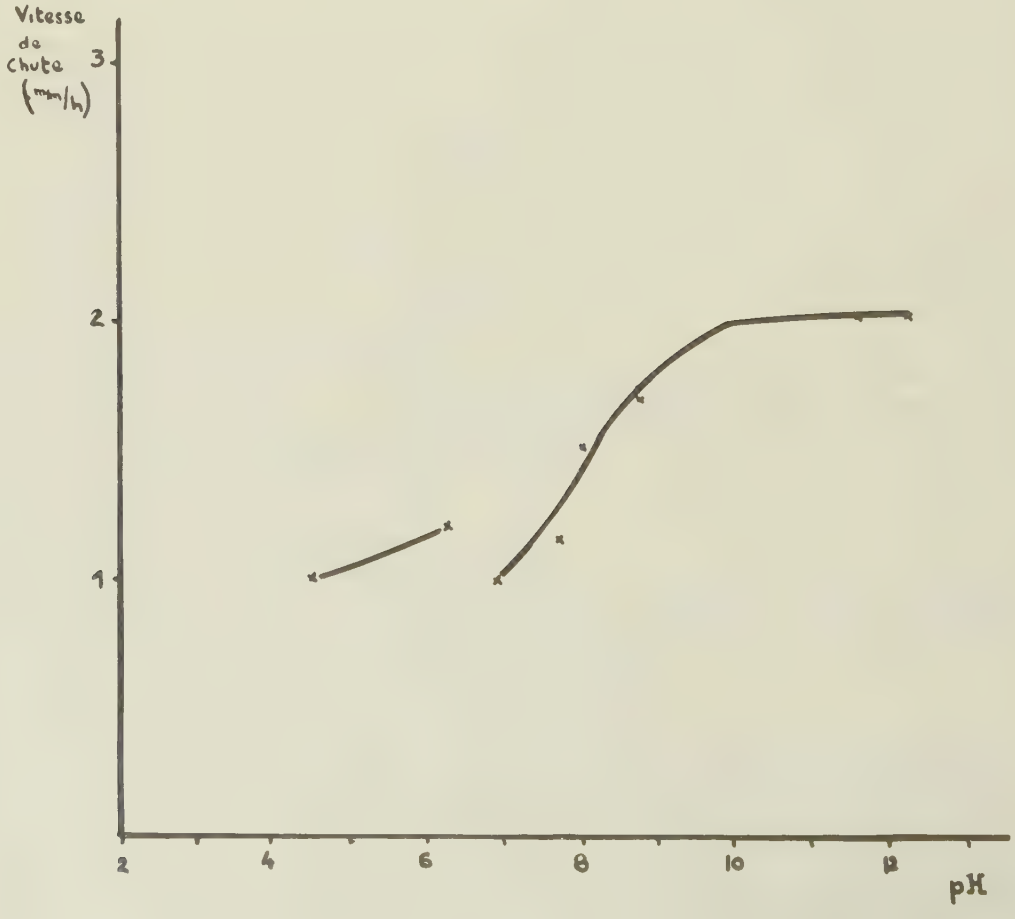


Figure 7 - Vitesse de chute des particules. - Chlorure de cérium sans entraineur.

Tableau VII

Vitesse de chute en fonction du pH - Nitrate de cérium sans entraineur.

pH	pente	f	v_t / v_{100}	v (mm/h)
3,5	0,07	4	0,05	0,7
4,9	0,4	16	0,08	1,1
5,95	2,5	60	0,14	1,9
6,5	0,85	48	0,06	0,8
6,7	3	66	0,09	1,2
7,35	2,1	87	0,11	1,5
7,5	4	92	0,18	2,4
11,25	20	97	0,63	8,6
13	34	99	1	13,5

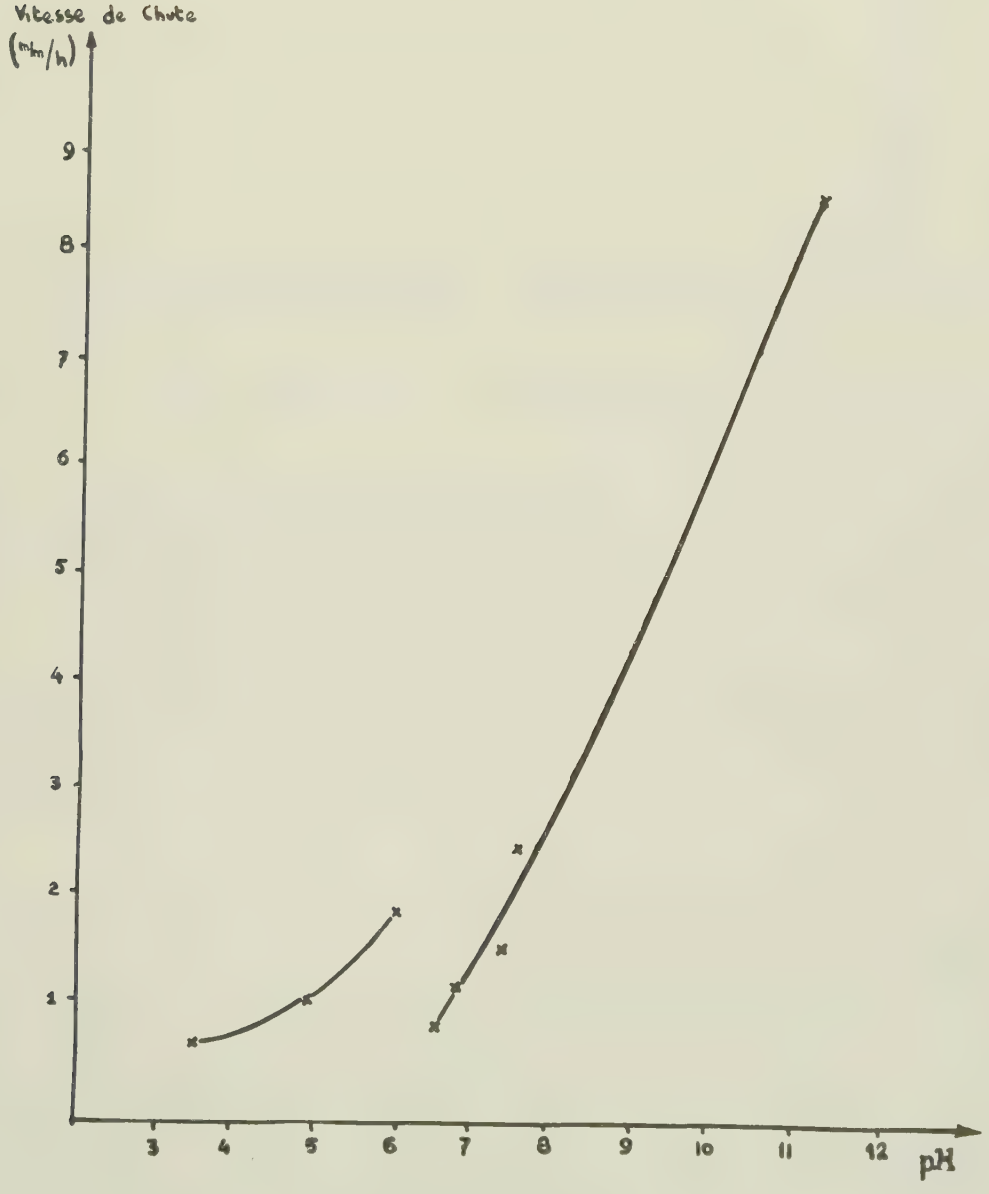


Figure 8 - Vitesse de chute en fonction du pH. - Nitrate de cérium sans entraineur.

DISCUSSION.

Les courbes expérimentales obtenues traduisent l'hétérogénéité des solutions de chlorure et de nitrate de cérium sans entraineur (aux concentrations de l'ordre de 10^{-10} M), pour des pH supérieurs à 4,5 dans le cas des chlorures et pour des pH supérieurs à 3 pour les nitrates.

Schweitzer et Jackson [50], par une méthode de filtration, ont montré que la précipitation de l'hydroxyde de lanthane colloïdal, La $(OH)_3$, aux concentrations molaires 10^{-12}, débutait à pH 2, atteignait 100 % à pH 6, la fraction retenue sur le filtre augmentant régulièrement dans la zone de pH comprise entre 2 et 6 (figure 9).

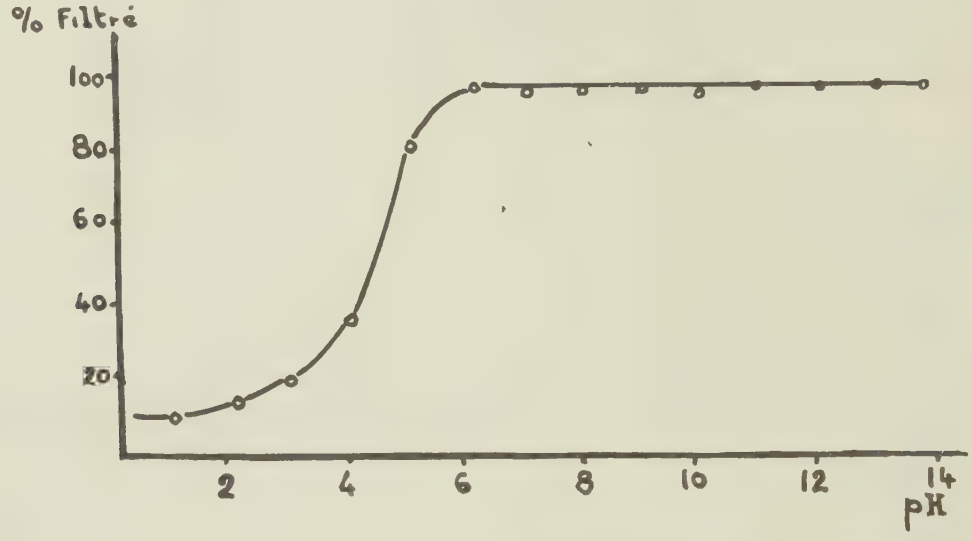


Figure 9 - Pourcentage de lanthane 140 filtré en fonction du pH obtenu en neutralisant une solution 1 N NO_3H avec une solution NaOH sans carbonate. (d'après Schweitzer et Jackson [50]).

Il est généralement admis que, à l'échelle des indicateurs, la précipitation des hydroxydes colloïdaux des terres rares est effective à des pH inférieurs de 1,5 à 2 unités au pH de précipitation des solutions à concentration molaire 10^{-2} [48]. En supposant que le comportement du cérium trivalent soit comparable à celui des autres terres rares trivalentes, l'hydroxyde de cérium colloïdal, Ce $(OH)_3$ devrait se former aux environs de pH 5. Cette notion, comme l'ont fait remarquer la plupart des auteurs, est en contradiction avec la notion du produit de solubilité.

Si on admet pour pH de précipitation de l'hydroxyde de cérium dans une solution 10^{-2} M, la plus basse des valeurs proposées, soit 7,1, le pH de précipitation de cet hydroxyde à l'échelle des indicateurs (molarité 10^{-10}), devrait être 9,8. En effet, si $P_{sb} = -\text{Log } S_b$, S_b étant la solubilité de la "base", la variation ΔP_{sb} est reliée à la variation de pH (ΔpH) par la relation :

$$\Delta pH = \frac{\Delta P_{sb}}{n}$$

n étant la valence (3 pour le cérium de nos solutions). A 10^{-10} M, ΔpH est de l'ordre de 8/3 soit 2,7 par rapport à une solution de molarité 10^{-2}.

La sédimentation constatée à partir de pH 4,5 pour les solutions de chlorure de cérium ne peut donc être le fait de la formation de Ce $(OH)_3$ si la notion de produit de solubilité est applicable aux concentrations envisagées. Schweitzer et Scott [53] font la même constatation pour l'yttrium.

Haïssinsky [26] explique cette contradiction apparente par le fait que les solutions du type de celles étudiées "constituent plutôt des systèmes dispersés qui ne sont pas en équilibre thermodynamique et contiennent des particules colloïdales de dimensions variables, et des ions simples et complexes, le tout en état d'évolution plus ou moins lente". D'autre part, il signale l'imprécision des valeurs expérimentales des produits de solubilité des hydroxydes très peu solubles, des différences de plusieurs puissances de dix apparaissent entre les valeurs obtenues par des méthodes différentes pour un élément donné.

Nous avons constaté une bonne reproductibilité des courbes de sédimentation, à plusieurs jours d'intervalle, lorsque le pH ne se modifie plus. Un équilibre tend à s'établir dans les suspensions étudiées, ceci plus ou moins rapidement en fonction du pH (de 2 à 15 jours). L'apparition, aux concentrations étudiées, d'une sédimentation pour un pH acide, de plusieurs unités inférieur au pH de précipitation théorique, peut donc être expliquée soit par l'imprécision des valeurs des produits de solubilité, soit par l'existence, aux pH acides, d'un composé différent de l'hydroxyde.

Si l'allure générale des courbes de sédimentation du chlorure et du nitrate de cérium trivalent diffèrent des courbes obtenues pour le lanthane par Schweitzer et Jackson (fig. 9), celles-ci étant obtenues par filtration et par centrifugation, elles ont un aspect comparable à celle publiée par Werner [64] concernant le thorium C (fig. 10) également obtenue par centrifugation.

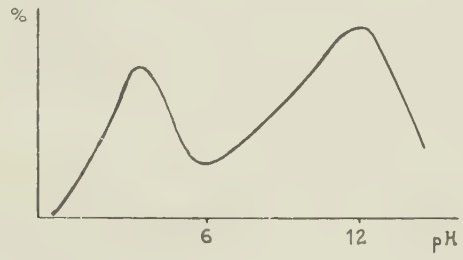


Figure 10 - Variation du Th C centrifugeable en fonction du pH. (D'après Werner O. [64]).

Korvezee a obtenu des courbes analogues avec le polonium [33]. En présence de quantités croissantes de nitrate et de sulfate de sodium, Korvezee a également mis en évidence l'existence d'un maximum de centrifugation du polonium.

Werner, partisan de la théorie de l'adsorption sur les particules étrangères contenues dans le milieu, explique les résultats obtenus par la modification de charge de ces particules en fonction du pH et de la concentration en électrolyte. Il admet en outre une charge négative des ions de thorium C.

Haïssinsky [24] et [25] a montré que l'adsorption sur les impuretés ne peut constituer un facteur déterminant des propriétés radiocolloïdales. De plus, Biltz [8] a montré que les particules d'hydroxydes de bismuth sont, en milieu neutre et acide, chargées positivement, contrairement à l'hypothèse de Werner.

Haïssinsky [25] explique l'existence du premier maximum, dans la zone des pH acides, par l'intervention de deux facteurs : l'action favorisante des acides à faible concentration sur la coagulation et l'action stabilisante des ions H^+ sur les colloïdes positifs. En milieu alcalin, la charge des particules étant probablement négative, la diminution de la quantité centrifugeable serait tout d'abord due à l'action stabilisante des ions OH^-, puis, aux pH plus élevés, à la dissolution à l'état ionique (bismuthates ou polonites solubles).

L'interprétation des courbes de sédimentation des sels de cérium trivalent nécessite la prise en considération d'informations complémentaires ; nous avons montré que la présence de particules étrangères ne modifiait pas les courbes de sédimentation. Un de nos collaborateurs, Arnaud (travaux non publiés) a montré que la dialyse d'une solution de chlorure de cérium 144 sans entraineur, était totale pour les pH inférieurs à 4,5 et partielle pour les pH compris entre 4,5 et 6,5, la fraction dialysable diminuant régulièrement entre ces deux valeurs de pH. A pH 6,5 correspondant au premier maximum de sédimentation, la fraction dialysable est nulle. La dialyse d'une solution à pH compris entre 6,8 et 8 montre l'existence d'une fraction dialysable, maximum à pH 7,2. Aux pH alcalins supérieurs à 8, aucune fraction dialysable ne peut être constatée.

L'ultrafiltration de solutions de chlorure de cérium sans entraineur apporte des informations comparables, la fraction ultrafiltrable étant cependant beaucoup plus faible pour les pH supérieurs à 5 et pratiquement nulle pour les pH supérieurs à 6,5.

Arnaud et Kayser (travaux non publiés) ont montré par électrophorèse en phase liquide, que la charge des ions était positive pour les pH inférieurs à 4,5 (Ce^{+++}). Pour les pH compris entre 4,5 et 6,5, la charge des particules est toujours positive et son importance relative décroit entre ces deux limites. A pH 6,5, la charge s'annule et devient négative pour les pH supérieurs. Ces résultats confirment l'existence de particules chargées positivement pour les pH inférieurs au pre-

mier maximum de sédimentation et l'existence de particules chargées négativement aux pH supérieurs à 6,5. Ils montrent de plus que la charge s'annule au pH correspondant au premier pic de sédimentation ; des résultats analogues ont été obtenus pour les solutions de nitrate de cérium trivalent ; annulation de la charge au pH correspondant au maximum de sédimentation dans la zone des pH acides. Il est important de constater que l'annulation de la charge ne se produit pas à la neutralité et que le pH auquel elle se produit est fonction de la nature de l'anion.

Ces différents résultats nous permettent d'affirmer que le cérium est ionique dans les solutions de cérium 144 sans entraineur aux pH inférieurs à 4,5 pour les chlorures, et dans les solutions de nitrate de cérium trivalent, aux pH inférieurs à 3,5.

Dans la zone de pH comprise entre 4,5 et 7,2 dans le cas des chlorures, et entre 3,5 et 6 pour les nitrates, le système comprend deux phases en équilibre : une phase ionique non sédimentable, dialysable et une phase dispersée colloïdale, susceptible de sédimenter. L'importance relative de ces deux phases varie en fonction du pH, un maximum de sédimentation, correspondant à un minimum de la phase ionique, est constaté à un pH légèrement acide, fonction de l'anion du sel étudié. Ce maximum de sédimentation correspond à l'annulation de la charge des particules.

La mise en évidence, dans cette zone de pH, d'une fraction dialysable, les résultats de la centrifugation à 3 000 g (le culot de centrifugation correspond à 10 à 25 % de la radioactivité initiale), l'étude des vitesses de chute des particules en fonction du pH, montrent que ces solutions constituent en réalité un système polydispersé, comprenant une phase ionique et une phase colloïdale constituée de micelles de petites dimensions. La phase ionique est constituée aux pH inférieurs à 4,5 par des ions céreux alors que dans la zone de pH comprise entre 4,5 et 6 il existe probablement des ions complexes, de plus grande dimension, capables de dialyser à travers une membrane de collodion mais ne pouvant être ultrafiltrés en totalité.

Aux pH supérieurs à 7,2, des agrégats chargés négativement et de grandes dimensions apparaissent dans les suspensions.

L'état physico-chimique du cérium sans entraineur en fonction du pH ne donne aucune précision sur la forme chimique de cet élément dans ces solutions ou suspensions. Si la phase dispersée mise en évidence aux pH alcalins correspond certainement à l'hydroxyde de cérium colloïdal, la forme du cérium aux pH légèrement acides n'est pas clairement définie. Il pourrait s'agir de sels basiques complexes, insolubles ou partiellement solubles, à l'état ionique ou colloïdal en fonction du pH. Cette hypothèse serait en accord avec celle de Kremers [32]. Dans ces conditions, le début de formation de l'hydroxyde de cérium trivalent se produirait à pH 7,8 dans le cas des solutions de chlorure de cérium et celle-ci serait totale à pH 8,5-9. Le désaccord avec le principe du produit de solubilité ne serait qu'apparent. De plus il est important de noter que l'étude d'une solution de chlorure de cérium avec entraineur, concentration molaire 10^{-2} ou 10^{-4}, obtenue par addition de cérium stable à la solution de chlorure de cérium 144 sans entraineur, nous a montré que la sédimentation débutait à pH 7. La courbe de sédimentation obtenue dans ces conditions correspond à la courbe classique de formation de l'hydroxyde céreux, le premier pic de sédimentation obtenu dans le cas des sels sans entraineur n'étant pas retrouvé. Il s'agit donc bien d'un comportement particulier aux solutions sans entraineur.

L'étude comparative des courbes obtenues pour chacun des deux anions étudiés montre quelques différences : si l'allure générale des courbes reste la même, la courbe de sédimentation est décalée de 1 unité pH environ vers les pH acides dans le cas des nitrates. De même la discontinuité constatée dans les vitesses de chute est retrouvée dans les deux cas mais ne correspond pas au même pH. De plus, les vitesses de chute des particules sont relativement plus grandes pour les solutions de nitrate, faisant penser à des particules de plus grande dimension. Si l'hypothèse de l'existence de sels basiques complexes est valable pour les pH inférieurs à 7, dans les solutions sans entraineur, le fait de constater des vitesses de chute plus importantes peut s'expliquer par une différence de composition des complexes et par les dimensions différentes des ions complexes obtenus à partir de chlorures ou de nitrates.

III

CONCLUSIONS

Le but de cette étude était de préciser l'état physico-chimique du cérium trivalent dans les solutions utilisées pour l'administration à l'animal. Indépendamment des renseignements exposés ci-dessus, cette étude nous apporte des données très importantes dans le cadre de notre travail. Elle précise l'état ionique ou colloïdal des solutions utilisées en fonction du pH de la solution et de la nature de l'anion. Elle nous permet d'apprécier les proportions de chacun de ces deux états pour les pH correspond à l'existence d'un système dispersé en équilibre. En particulier, l'utilisation de solutions à un pH voisin du pH des liquides organiques (7,4) présente des difficultés du fait des variations rapides de l'équilibre ion/colloïde dans cette zone de pH.

Il devient possible d'administrer à un animal, une solution d'un sel de cérium sans entraineur, connaissant avec précision l'état physico-chimique de ce sel. Nos expériences préliminaires ayant montré que le devenir du cérium dans l'organisme était lié au pH des solutions injectées, il était logique de relier les différences constatées à l'état du cérium dans les solutions administrées. Nous avons précisé ces faits par l'étude du mode de transport du cérium dans le sang, en fonction du pH de la solution injectée et en fonction de l'état ionique ou colloïdal de ce produit de fission, étude qui fait l'objet de la deuxième partie de ce travail.

DEUXIÈME PARTIE

MODE DE TRANSPORT DU CÉRIUM 144 SANS ENTRAINEUR DANS LE SANG

I

INTRODUCTION

Tout élément introduit dans l'organisme par voie veineuse se trouve mis en contact avec un milieu hétérogène et complexe, le sang. De ce fait, des interactions nombreuses et variées prennent place entre les différents constituants du sang et l'élément injecté. Elles se traduisent soit par des modifications d'ordre chimique (formation de complexes avec les anions complexants du sang - citrate par exemple - formation de sels insolubles, dissociation du sel administré) et par des modifications de l'état physico-chimique (formation d'hydroxydes colloïdaux au pH du sang, adsorption sur les éléments figurés du sang). La distribution dans l'organisme étant sous la dépendance étroite de l'état sous lequel se trouve l'élément dans le sang, la connaissance du mode de transport et son évolution dans le temps, permettent d'en préciser le mécanisme. Ces données présentent de plus un grand intérêt dans l'étude des moyens thérapeutiques à mettre en oeuvre en cas d'intoxication par les radioéléments ; les tentatives faites jusqu'ici n'ont pratiquement été couronnées de succès, pour la plupart des radioéléments, que lorsque le traitement était institué pendant la phase sanguine de la radiointoxication et seule la connaissance du mode de transport et des conditions de disparition du radioélément dans le sang, constituent une base rationnelle à l'étude des procédés thérapeutiques à mettre en oeuvre.

Peu de travaux ont été jusqu'ici consacrés à l'étude du mode de transport du cérium dans le sang.

Il est généralement admis que le cérium 144, par analogie avec les terres rares trivalentes pour lesquelles le pH de précipitation de l'hydroxyde est voisin ou inférieur au pH des liquides biologiques, devient colloïdal dès son introduction dans le sang. Il resterait sous cette forme et cette hypothèse permet de rendre compte de la captation rapide du cérium par le foie et par les autres organes riches en formations réticulo-endothéliales (rate, squelette et à un moindre degré, les reins).

Cependant, Hamilton [27] a constaté des anomalies dans la fixation du cérium par la rate, cet organe ne retenant, par gramme de tissu, qu'une fraction infime du cérium, fraction très inférieure à celle fixée simultanément par gramme de foie. Hamilton conclut de ces faits que le comportement colloïdal du cérium n'est peut être pas la seule explication à envisager. Cette suggestion ne paraît pas avoir été retenue par les autres chercheurs. L'explication de ces faits a été envisagée sur la base des travaux de Dobson et coll. [14] : ces auteurs ont en effet montré que la distribution d'un colloïde entre les différents organes riches en formation réticulo-endothéliales était sous la dépendance des dimensions des particules ou des agrégats présents dans le sang. La non fixation ou la faible fixation dans la rate, serait due uniquement à une captation sélective par le foie de micelles de grandes dimensions.

Durbin [18] a étudié le comportement de microquantité de cérium 144 dans le plasma hépariné de rat, in vitro. Elle utilise une préparation obtenue par addition de citrate de sodium à une solution de chlorure de cérium sans entraineur, dans le rapport molaire 1000/1, dans le but d'éviter la formation d'agrégats. Après addition de cette solution diluée de cérium à du plasma de rat, Durbin en a étudié la répartition entre les différents constituants du plasma par dialyse et par séparation chimique des fractions globulinique et albuminique.

Les résultats obtenus par cet auteur sont d'interprétation difficile : la répartition observée est fonction du mode d'étude ; après une dialyse de deux heures contre du sérum salé isotonique,

8 % seulement du cérium ont dialysé. Des 92 % restant dans le sac à dialyse, 67 % sont retrouvés dans le filtrat non protéinique après séparation des globulines et des albumines par le sulfate d'ammonium. Une dialyse de cinq jours contre de l'eau déionisée, suivie d'une séparation de protéines plasmatiques par les méthodes classiques, conduit à des résultats différents : 1 % seulement du cérium est dialysable, 97 % sont retrouvés sur la fraction globulinique.

Ces résultats, obtenus à partir d'un complexe citrique de cérium ne peuvent être transposés au cas des solutions de nitrate ou de chlorure de cérium, le citrate de cérium étant diffusible et non nécessairement dissocié immédiatement dans le sang.

Nous avons voulu préciser le mode de transport du cérium sans entraineur dans le sang pour les sels simples de cérium, et il nous a paru indispensable d'étudier successivement le comportement du cérium sans entraineur, dans le plasma et dans le sang total, in vitro, avant de passer à l'étude du devenir de cet élément dans le sang circulant, après injection intra-veineuse chez l'animal.

II

COMPORTEMENT DU CÉRIUM SANS ENTRAINEUR DANS LE PLASMA, IN VITRO

1 - METHODES EXPERIMENTALES ET RESULTATS.

Nous avons utilisé plusieurs méthodes pour étudier la répartition du cérium sans entraineur dans le plasma et dans le sérum de différents animaux de laboratoire et dans le sérum humain. Les solutions de cérium, nitrate ou chlorure, sont amenées à un pH tel que l'état physico-chimique du cérium soit bien défini dans ces solutions.

A - Sédimentation dans le plasma, in vitro.

Utilisant le dispositif d'étude de la sédimentation décrit précédemment, nous avons étudié le comportement du cérium ionique ou colloïdal dans le plasma de lapin et dans le sérum humain au moyen de solution de nitrate de cérium à pH 3 et à pH 8. La première de ces solutions correspond à un état ionique et la seconde à un état colloïdal du cérium.

Plasma de lapin - (Figure 11).

A 20 ml de plasma de lapin, obtenu après centrifugation de sang frais hépariné, nous ajoutons 1/10 de ml de la solution étudiée. L'addition de cette solution ne modifie pas le pH du plasma.

Dans ces conditions, une sédimentation rapide est constatée dans le cas de l'addition de cérium colloïdal alors qu'aucune sédimentation n'est obtenue après addition de cérium ionique pendant 48 heures d'enregistrement continu.

Sérum humain - (Figure 12).

Le même type d'expérience réalisé à partir de sérum humain recueilli après coagulation et rétraction du caillot conduit à des résultats analogues : une sédimentation n'est obtenue qu'après addition de cérium colloïdal.

Interprétation.

Ces résultats montrent que le comportement du cérium dans le plasma de lapin et dans le sérum humain, est fonction de l'état physico-chimique de cet élément dans la solution ajoutée aux liquides biologiques. Il est comparable à celui du cérium en solutions aqueuses : la sédimentation ne se produit que dans le cas du cérium colloïdal. Nous avons vérifié que cette sédimentation est totale et qu'elle n'entraine pas de fraction protéinique : par centrifugation du plasma contenant la solution de cérium colloïdal un culot de centrifugation est recueilli ; après lavage au sérum physiologique, aucune précipitation de protéine n'est constatée par l'acide trichloracétique, et ce culot, repris par le sérum physiologique, présente un comportement à la sédimentation, comparable à celui de la solution d'origine (cérium sous forme colloïdale). La cinétique de cette sédimentation (dans le plasma) est légèrement modifiée par rapport à celle en eau distillée ; le temps de sédimentation est allongé, probablement du fait de la viscosité du milieu plasmatique.

Nous pouvons en déduire que l'hydroxyde de cérium est resté "libre" dans le plasma, ne contractant aucune liaison avec les protéines plasmatiques.

L'absence de sédimentation dans le plasma après addition de cérium ionique, montre que celui-ci n'a pas été transformé en hydroxyde de cérium colloïdal par l'action du pouvoir tampon du plasma ; ce facteur n'est pas intervenu et le cérium n'est donc pas "libre" dans le plasma : il doit nécessairement être lié à un support (protéine) ou former un complexe soluble. Les expériences suivantes ont pour but de préciser ce point. De ce fait, l'hypothèse du devenir colloïdal du cérium dans le plasma n'est pas confirmée ; nous y reviendrons ultérieurement.

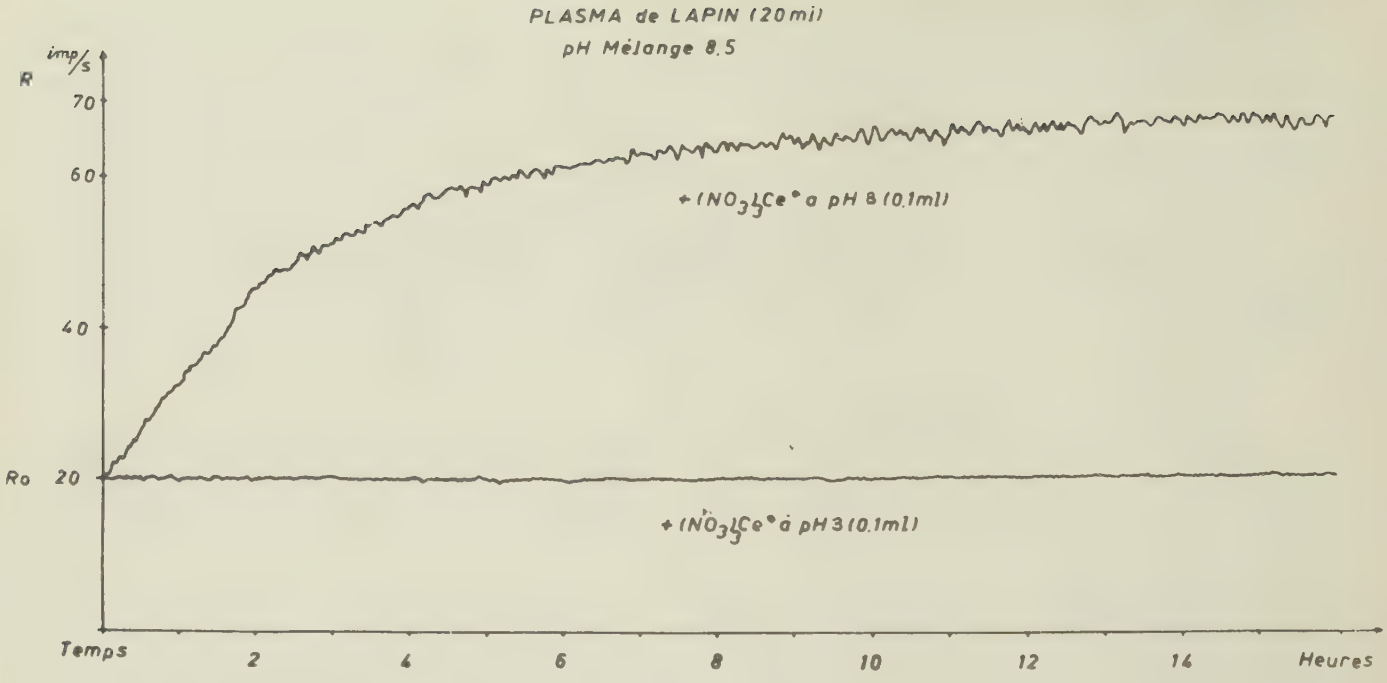


Figure 11 -

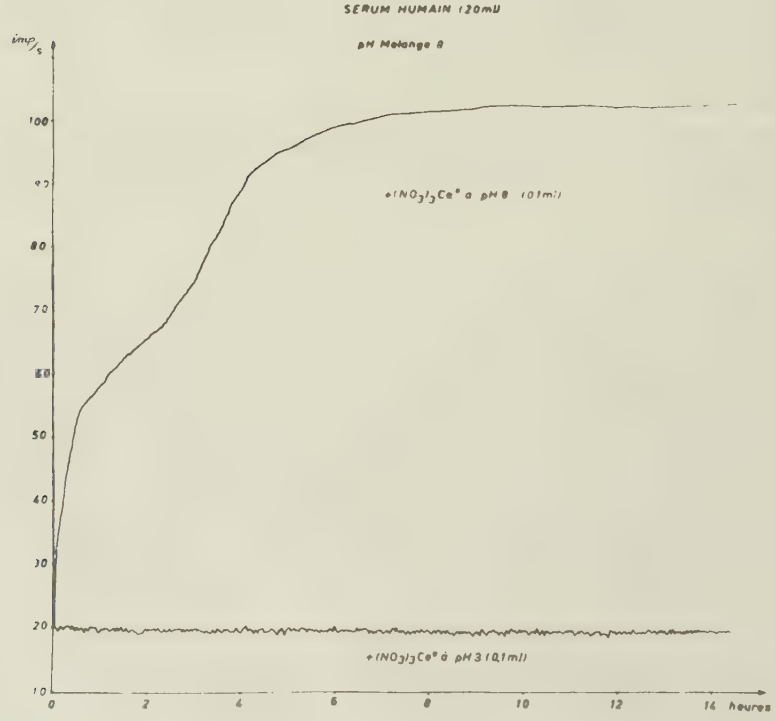


Figure 12 -

B - Electrophorèse du plasma.

L'électrophorèse sur papier permet de préciser la répartition d'un radioélément sur les différentes protéines plasmatiques.

Ces études ont été faites suivant la technique classique : tampon véronal sodique à pH 8,6 (110 volts pendant 12 heures, 4 à 7 mA par bande). La localisation de la radioactivité sur la bande d'électrophorèse a été précisée :

a) par enregistrement continu de la radioactivité sur la bande non colorée ; collée sur un cylindre, la bande défile d'un mouvement continu devant un compteur Geiger-Müller muni d'un diaphragme à fente variable. Un intégrateur et un enregistreur complètent l'installation.

b) par autoradiographie de contact avant coloration. Le temps de pose est déterminé pour chaque bande en fonction des données de l'enregistrement. La coloration de la bande n'est pratiquée qu'en dernier lieu afin d'éviter les effets de voile d'origine chimique au cours de l'autoradiographie et les déplacements du cérium au cours des lavages.

Cette méthode a été appliquée à différents plasmas d'animaux de laboratoire (lapin, rat, cobaye) et à du sérum humain auxquels des solutions de chlorure ou de nitrate de cérium sans entraineur ont été ajoutées. A 10 ml de plasma est ajouté 0,1 ml de la solution de cérium après détermination précise du pH et de ses caractéristiques de sédimentation.

Résultats expérimentaux.

a) Sérum de lapin. (Figure 13).

La figure 13 montre, de haut en bas, l'électrophorégramme coloré, l'autoradiographie et l'enregistrement de la radioactivité, après addition d'une solution de nitrate de cérium à pH 2,2. Les positions de départ sont matérialisées par un trait vertical.

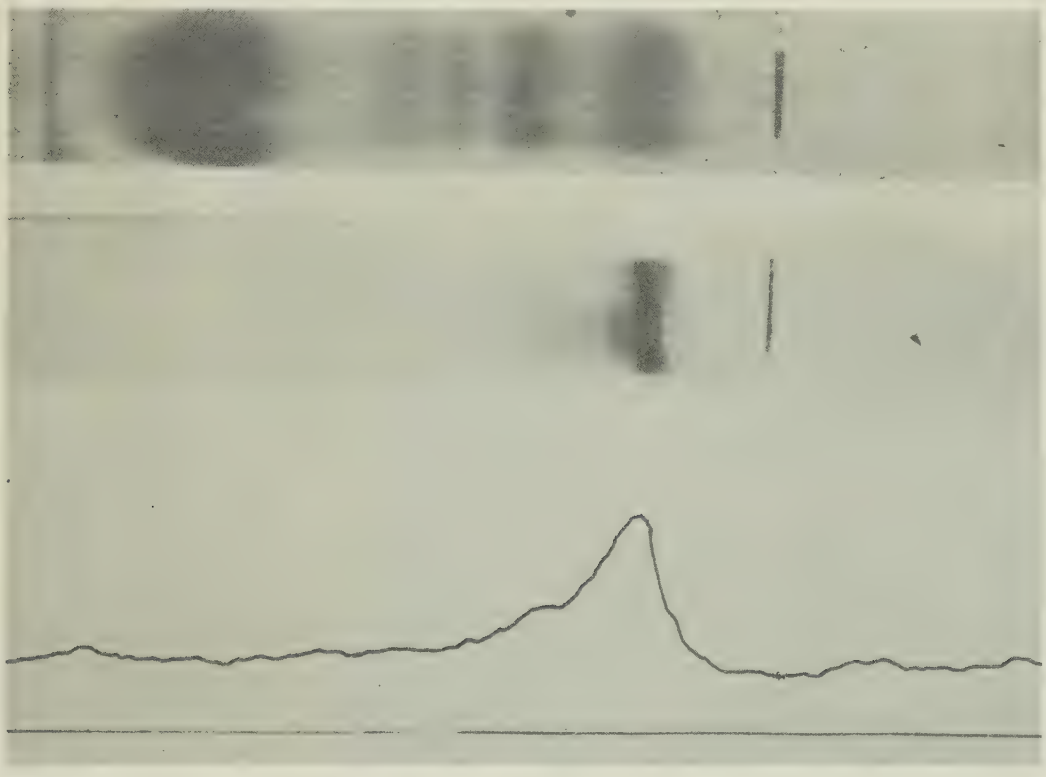


Figure 13 - Sérum de lapin. Nitrate de cérium à pH 2,2.

L'autoradiographie et l'enregistrement montrent une localisation du cérium sur les γ globulines et sur les β_2 globulines. Aucune radioactivité n'est décelée sur les autres globulines ou sur les albumines. Tout le cérium déposé au point de départ a été entrainé et a migré avec les γ et les β_2 globulines.

La figure 14 reproduit les résultats obtenus après addition d'une solution de nitrate de cérium à pH 7,5. Dans ces conditions, le cérium est colloïdal. L'autoradiographie et l'enregistrement

montrent l'absence de migration du radioélément. Le pic très aigu constaté à l'enregistrement et la tache sur l'autoradiographie sont localisés à la zone de dépôt du plasma. La migration des différentes protéines plasmatiques est normale, aucun entrainement du cérium avec celles-ci n'est constaté.

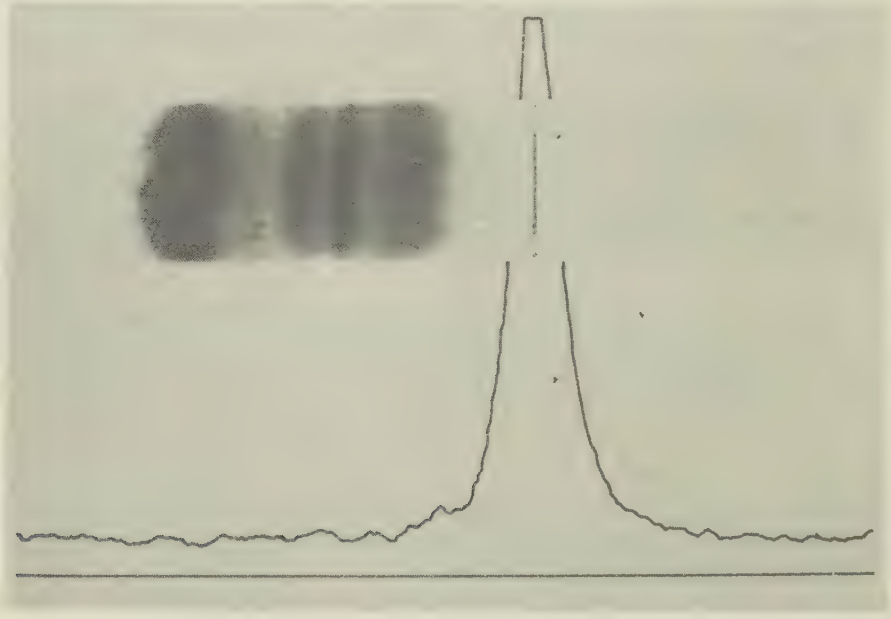


Figure 14 - Sérum de lapin. Nitrate de cérium à pH 7,5.

Sur certaines autoradiographies, on constate la présence, dans la tache reproduisant les contours de la zone de dépôt du plasma marqué, de taches arrondies, denses, de dimensions variables : elles correspondent à la présence d'agrégats micellaires (figure 18 par exemple).

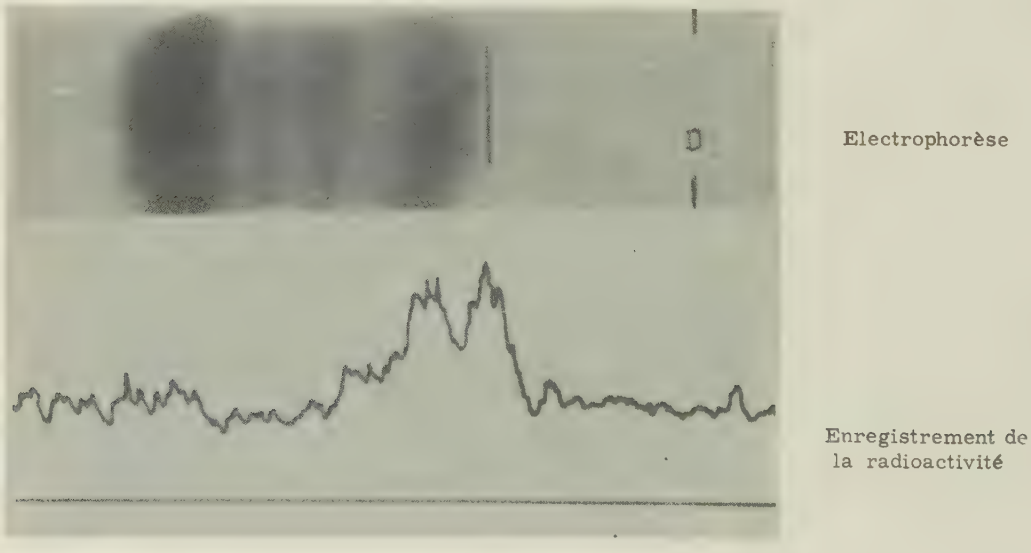


Figure 15 - Sérum de lapin. Nitrate de cérium à pH 6,5.

La figure 15 montre les résultats obtenus après addition d'une solution de nitrate de cérium à pH 6,5. Dans ces conditions 50 % du cérium environ sont sous forme ionique et 50 % sous forme colloïdale. L'enregistrement montre la présence de deux pics de radioactivité ; un correspond à la

zone de départ et l'autre à une migration du cérium avec les γ et les β_2 globulines. La surface limitée par chacun des pics est du même ordre de grandeur. Dans ce cas, un double comportement du cérium est mis en évidence ; chaque fraction se comporte comme si elle était seule, la fraction ionique étant entrainée par les γ et les β_2 globulines, la fraction colloïdale restant au point de départ.

b) Sérum de rat.

Des résultats semblables ont été obtenus à partir de solution de nitrate de cérium additionnée à du sérum de rat (Figure 16).

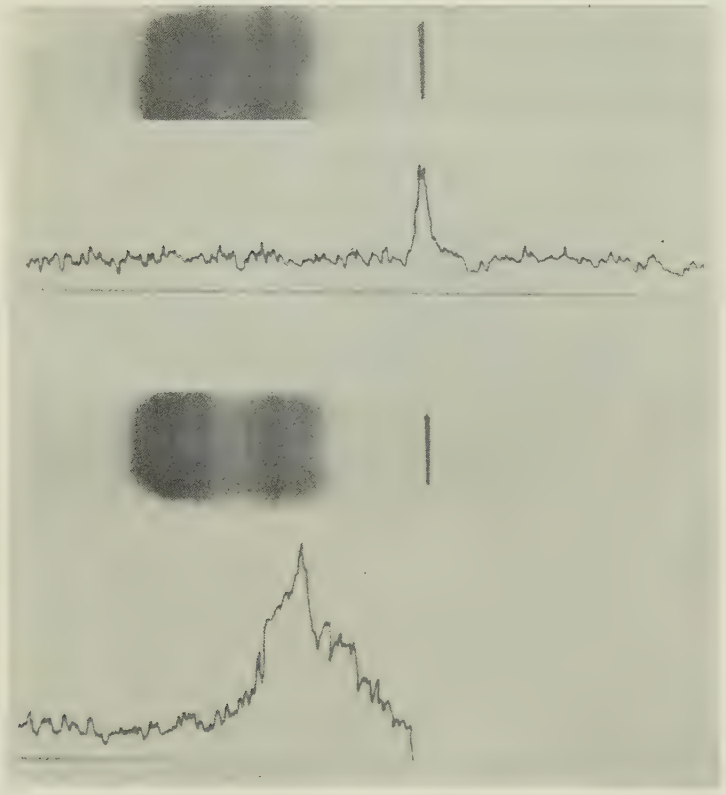


Figure 16 - Sérum de rat. Nitrate de cérium à pH 8 et 3.

c) Plasma de cobaye.

Une étude analogue avec du plasma de cobaye conduit à des résultats superposables aux précédents (Figure 17).

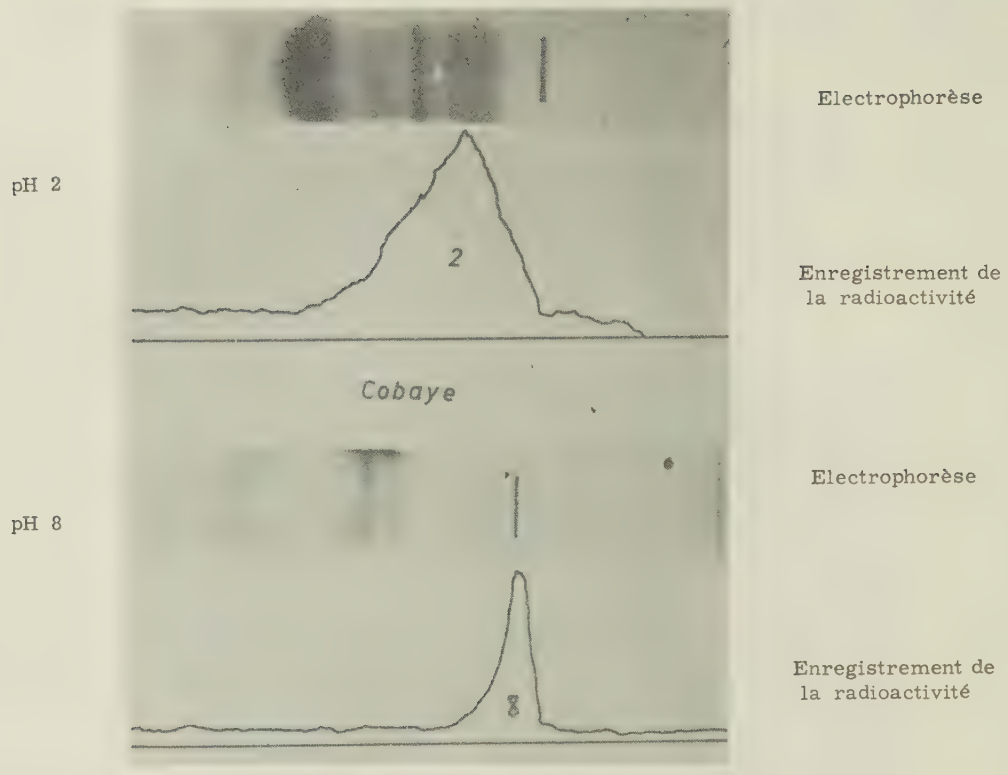


Figure 17 - Plasma de cobaye. Nitrate de cérium à pH 2 et 8.

d) Sérum humain.

La figure 18 groupe les résultats obtenus après addition de nitrate de cérium à pH 2 et à pH 8 à du sérum humain.

Au cours d'une expérience, avec du sérum humain, nous avons constaté l'existence de deux pics distincts sur les γ globulines et sur les albumines. En fait, le sérum humain utilisé avait été conservé dans de mauvaises conditions. L'altération des globulines, donnant probablement naissance à des fractions de mobilité électrophorétique accrue, explique cette localisation que nous n'avons jamais retrouvée avec du sérum humain frais conservé dans de bonnes conditions.

Interprétation.

Ces résultats expérimentaux montrent, que, aussi bien dans le sérum que dans le plasma, chez l'homme et chez divers animaux de laboratoire, le cérium ionique est lié aux γ globulines et à une fraction des β_2 globulines. La totalité du cérium ionique initialement ajoutée au plasma ou au sérum est liée à ces protéines. Le sérum albumine, les α_1 et α_2 globulines ne participent pas à cette réaction. Aucune liaison n'est constatée avec le fibrinogène.

Par contre, le cérium colloïdal n'est pas entrainé par les protéines plasmatiques. L'hydroxyde de cérium, chargé négativement, peut former un complexe stable avec la cellulose. Il reste au point de départ et son adsorption sur le support explique sa non migration en fonction de sa charge.

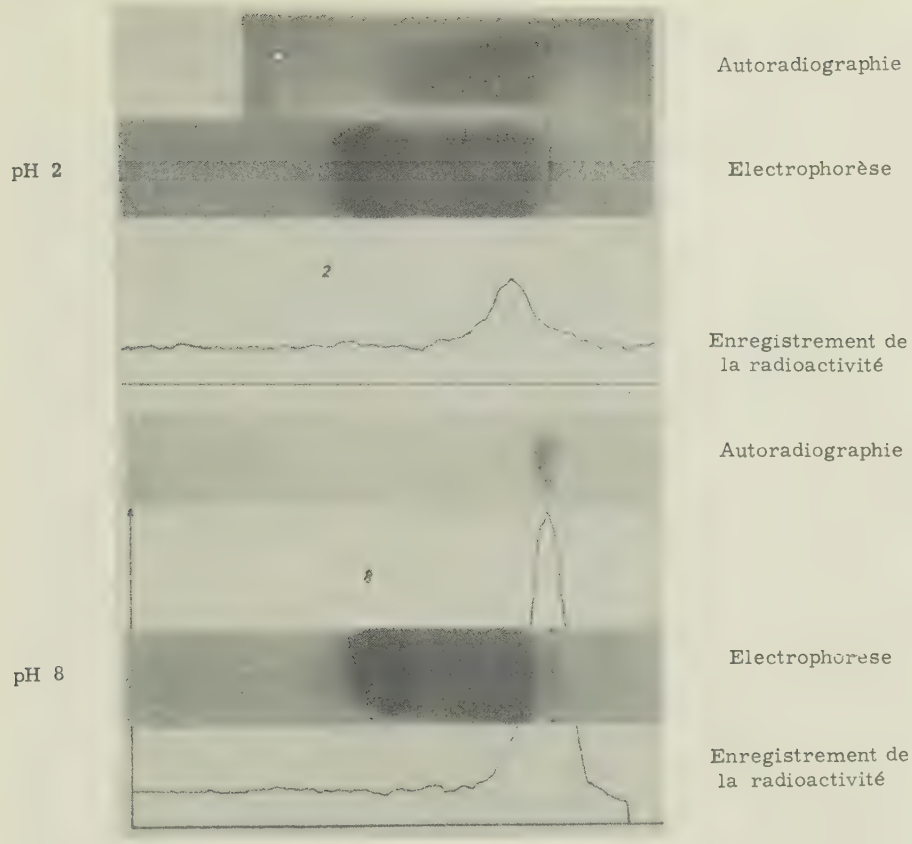


Figure 18 - Sérum humain. Nitrate de cérium à pH 2 et à pH 8.

Lorsque la solution de cérium est un système dispersé dans lequel une phase colloïdale est en équilibre avec une phase ionique, un fractionnement de ces deux phases est réalisé dans le plasma ; les γ et les β_2 globulines entrainent la fraction ionique du cérium ; la fraction colloïdale reste adsorbée au point de dépôt.

C - Séparation chimique.

Nous avons vérifié la fixation du cérium ionique sur les globulines du plasma de lapin par séparation chimique. La méthode de séparation employée est celle proposée par Dubert et coll. [15], elle-même adaptation de la méthode de Pillemer et Hutchinson [45]. Elle utilise le méthanol à 30 % à 0°C. Elle ne fait intervenir que de faibles variations de pH et la dénaturation des protéines séparées est très faible. Elle permet de séparer les protéines plasmatiques en trois fractions : γ globulines, α et β globulines, albumines.

La fraction γ globulinique ainsi séparée entraine 95 % de la radioactivité totale (déterminée par mesure directe et par contrôle de la radioactivité du surnageant). 5 % restent dans le surnageant. Les γ globulines séparées sont solubles dans le soluté physiologique (une fraction est très soluble, l'autre l'est plus difficilement).

La vérification électrophorétique des différentes fractions obtenues par séparation montre (Figure 19) :

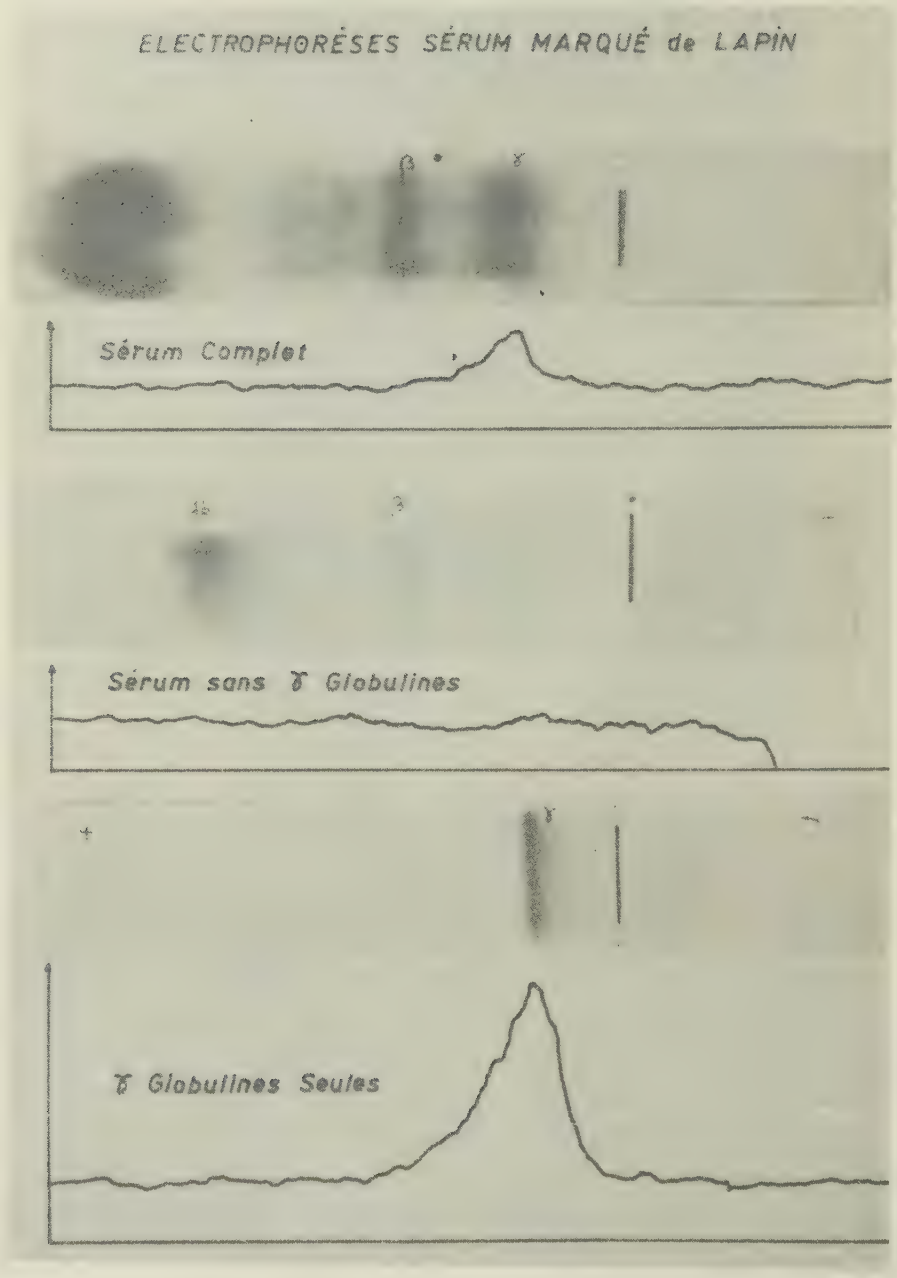


Figure 19 - Séparation des protéines plasmatiques par méthode chimique.

- sur le plasma total avant séparation : fixation du cérium sur les γ et sur les β_2 globulines,

- la fraction globulinique γ séparée est pure. Sa mobilité électrophorétique est comparable à celle des γ globulines du plasma total. Une seule tache homogène est obtenue. La radioactivité est localisée en totalité dans la zone correspondant aux γ globulines.

- l'électrophorèse du filtrat après séparation des γ globulines montre l'absence de tache correspondant à celles-ci. L'électrophorégramme ne comporte que des globulines α et β et les albumines. Aucune radioactivité n'est décelée sur ces fractions.

Nous avons également effectué la précipitation des protéines du sérum par l'addition d'acide trichloracétique à 20 %. Les protéines précipitées n'entrainent aucune radioactivité. Celle-ci est retrouvée en totalité dans le surnageant. Cette dernière expérience met en évidence le rôle de la méthode de séparation utilisée pour l'étude de la protéine véhiculant le cérium : l'acide trichloracétique est particulièrement "agressif" pour les protéines et provoque un abaissement important du pH de la solution. La liaison cérium-globulines est probablement rompue à ce pH. Ce résultat nous a incité à étudier la stabilité de cette liaison et nous l'envisagerons plus loin.

D - Méthode immunologique.

La liaison cérium ionique-γ globuline ayant été constatée au cours des expériences précédentes, il était intéressant de vérifier son existence par une réaction antigène-anticorps, le support des anticorps étant connu comme étant les γ globulines et peut-être les β_2 globulines.

Dans ce but, nous avons préparé un lapin par des injections de sérum de boeuf additionné d'empois d'amidon à 2%. Le lapin reçoit tous les deux jours une injection sous-cutanée de sérum de boeuf pendant 20 jours et ensuite, une deuxième série d'injections [10] par voie sous-cutanée et par voie intra-veineuse. Après un repos de 8 jours, le lapin est sacrifié et le sérum de lapin anti-boeuf est séparé par centrifugation du sang.

On ajoute au sérum ainsi obtenu, une quantité variable de solution de chlorure de cérium à pH 3,5 pour obtenir une gamme de dilution. Une électrophorèse de contrôle montre que le cérium est lié aux γ globulines. Après addition de sérum de boeuf, le mélange est maintenu pendant 24 heures à la température du laboratoire. Le tube contenant le précipité le plus abondant est centrifugé et, après décantation soigneuse, la radioactivité par gramme du surnageant et celle du culot, sont déterminées dans les conditions habituelles. On constate une répartition de la radioactivité entre le surnageant et le culot de centrifugation. Le tableau VIII donne la répartition obtenue au cours d'une expérience.

Tableau VIII

Agglutination des γ globulines "marquées" par le sérum de boeuf dans du sérum anti-boeuf.

Poids du surnageant (g)	Poids du culot (g)	Radioactivité du surnageant totale (imp/mn)	Radioactivité du surnageant par g (imp/mn)	Radioactivité du culot totale (imp/mn)	Radioactivité du culot par g (imp/mn)
1539	0,116	5872	3816	2668	23000

Dans le sérum de lapin anti-boeuf, une fraction des gamma-globulines seulement supporte les anti-corps. Le cérium est lié à l'ensemble des γ globulines. Seule la fraction des γ globulines spécifiques participe à l'agglutination des antigènes et est précipitée. Les γ globulines non spécifiques restent en suspension dans le sérum expliquant ainsi la répartition de la radioactivité entre le culot et le surnageant. Cette expérience montre que le cérium lié aux globulines est précipité en même temps qu'elles par un antigène spécifique. Sa présence n'empêche pas la réaction d'agglutination de se produire.

Remarque : Etude de la stabilité de la liaison cérium-globulines par la méthode électrophorétique.

Nous avons vu que l'addition d'acide trichloracétique provoquait la rupture de la liaison existant dans le plasma et dans le sérum entre le cérium et les γ globulines. Nous avons voulu préciser ce

point en faisant varier le pH des solutions tampon utilisées pour l'électrophorèse pensant atteindre par là les conditions provoquant la rupture de la liaison cérium-globulines. Nous avons employé divers tampons à des pH compris entre 10 et 5,4. Les résultats suivants ont été obtenus :

1) tampon carbonate-ammonium à pH 10 : le cérium migre normalement avec les globulines.

2) tampon véronal-sodique à pH 8,6 : le cérium migre avec les γ et les β_2 globulines (conditions expérimentales des différentes expériences relatées plus haut).

3) tampon phosphate mono et disodique à pH 7,35 : les gamma globulines migrent seules vers le pôle négatif. Elles entrainent avec elles la totalité du cérium (figure 20).

4) tampon phosphate mono et disodique à pH 6,8 et 6,6 : l'ensemble des protéines migre vers le pôle négatif. La radioactivité est toujours retrouvée sur les γ et les β_2 globulines.

5) tampon citrate-phosphate à pH 5,4 : la radioactivité est retrouvée dans la cuve d'électrophorèse. Ce fait traduit soit une rupture de la liaison due au pH soit la formation d'un complexe soluble avec le citrate.

6) tampon phosphate à pH 5,8 : on obtient sur l'enregistrement et sur l'autoradiographie, deux pics de radioactivité : un au point de départ et un correspondant aux γ globulines (figure 21 A).

7) tampon phtalate acide de potassium et soude à pH 5,4 : la liaison cérium-γ globulines est rompue par formation probable d'un phtalate insoluble ; le cérium reste au point de départ (figure 21 B).

8) tampon borax-acide succinique à pH 5,4 : on constate la rupture de la liaison et le cérium reste au point de départ (figure 21 C).

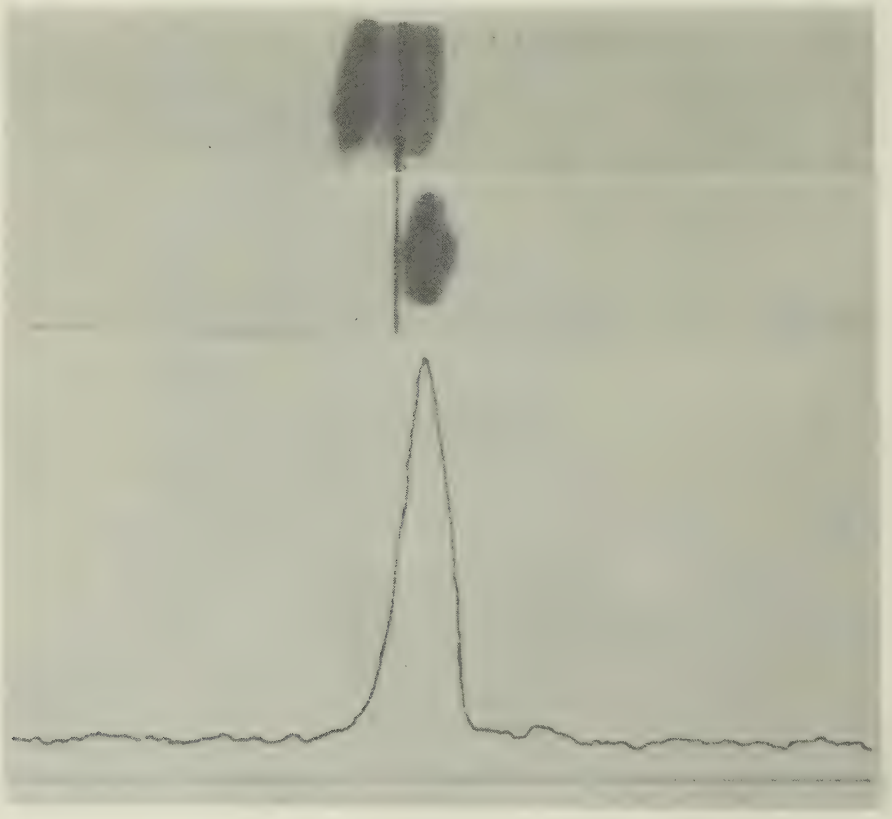


Figure 20 - Tampon phosphate mono et disodique à pH 7,35.

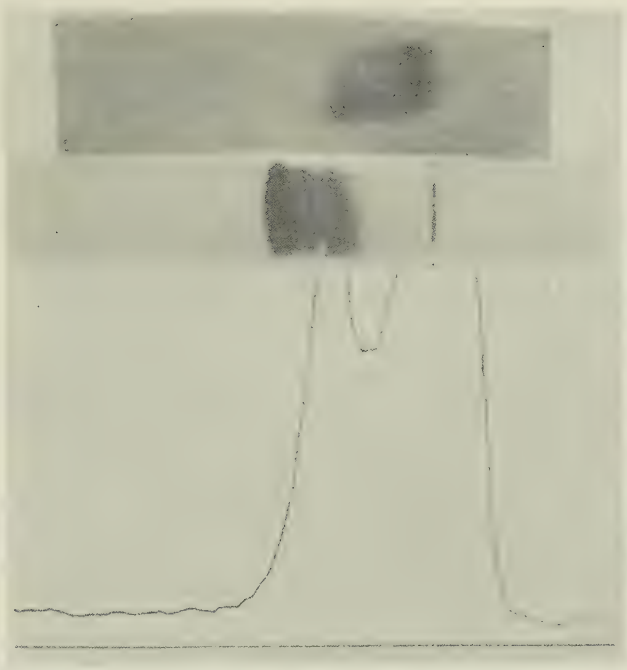


Figure 21 A - Tampon citrate-phosphate pH 5,8.

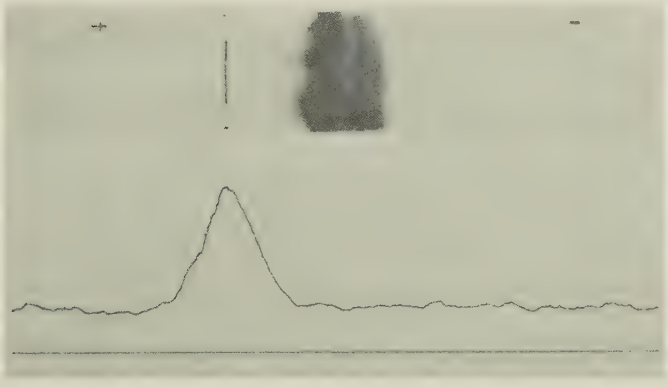


Figure 21 B - Tampon phtalate acide de potassium et soude à pH 5,4.

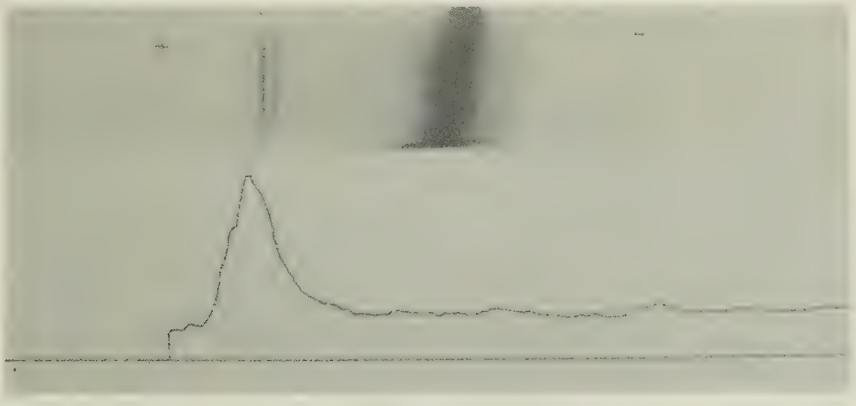


Figure 21 C - Tampon borax-acide succinique à pH 5,4.

2 - INTERPRETATION.

Les différentes méthodes mises en oeuvre pour préciser le devenir du cérium sans entraineur dans le plasma ou dans le sérum, in vitro, conduisent toutes à des résultats concordants :

- le cérium ionique se fixe en totalité sur les γ et sur les β_2 globulines,

- le cérium colloïdal reste "libre" dans ces milieux,

- les autres protéines plasmatiques (fibrinogène, α_1 et α_2 globulines, albumines) n'établissent aucune liaison avec le cérium ionique.

L'existence d'une liaison cérium-γ globulines pour le cérium ionique et la non fixation de l'hydroxyde de cérium sur les protéines plasmatiques, rendent compte des résultats expérimentaux obtenus au cours de la sédimentation d'une solution de nitrate en milieu plasmatique en fonction du pH de cette solution. Des résultats analogues ont été obtenus avec une solution de chlorure de cérium sans entraineur. A l'état ionique, le cérium lié aux γ globulines ne sédimente pas ; à l'état colloïdal, le cérium, "libre" dans le plasma, sédimente dans des conditions comparables à celles d'une solution aqueuse.

Ces résultats mettent également en évidence l'existence d'une grande affinité des γ et des β_2 globulines pour le cérium ionique. La fixation ést immédiate et elle est totale lorsque le cérium est sans entraineur. Cette liaison est réalisée avant que le pouvoir tampon du plasma ait pu amener le cérium à un pH alcalin, ce qui provoquerait nécessairement sa précipitation sous forme d'hydroxyde colloïdal.

Ce comportement parait assez particulier au cérium sans entraineur : la liaison d'un ion métallique avec les globulines, et uniquement avec elles, n'est pas courante. D'autres ions métalliques (Zn, Ag) établissent des liaisons avec les globulines, mais ils en établissent également avec les autres protéines plasmatiques. L'existence d'une liaison entre les γ et les β_2 globulines et le cérium fait envisager l'intervention des groupements fonctionnels de la sérine, acide aminé commun à ces deux protéines, qui ont par ailleurs de nombreux caractères voisins (poids moléculaire, dimension de la molécule, mobilité électrophorétique) rendant leur séparation particulièrement délicate.

La liaison cérium-γ globulines présente une certaine labilité : elle est rompue à un pH compris entre 5,8 et 6,6 et en présence d'un agent complexant tel que le citrate de sodium, ce dernier formant avec le cérium un complexe soluble. Cette labilité explique les résultats obtenus par la précipitation des protéines plasmatiques par l'acide trichloracétique, amenant le pH du milieu à une valeur inférieure à 1. Cette propriété pourrait également expliquer les résultats divergents de Durbin, cités plus haut. Cependant un autre facteur doit être en cause dans les expériences de cet auteur : l'emploi d'un complexe citrique ne se dissociant pas immédiatement dans le plasma, modifie les caractères de diffusion à travers les membranes, le citrate de cérium étant soluble.

Sur un plan plus général, nos expériences montrent l'importance du choix de la méthode d'étude du comportement d'un radioélément sans entraineur dans les milieux biologiques.

Les expériences suivantes ont pour but de préciser le rôle éventuel des éléments figurés du sang dans le comportement du cérium, ionique et colloïdal, dans des milieux plus complexes.

III

COMPORTEMENT DU CÉRIUM SANS ENTRAINEUR DANS LE SANG TOTAL, IN VITRO

Les éléments figurés du sang jouent un rôle important dans le transport de certains ions métalliques. Aucun rôle ne leur a été attribué jusqu'ici dans le transport du cérium.

Au cours d'expériences préliminaires, nous avons constaté, après centrifugation de sang de souris additionné d'une solution de nitrate ou de chlorure de cérium sans entraineur, une répartition irrégulière de la radioactivité entre le plasma et les éléments figurés. Un maximum de radioactivité est constaté à la partie supérieure du culot rouge, suggérant une fixation élective importante sur les globules blancs. Nous avons repris cette étude à partir de sang de lapin, effectuant une séparation du sang en plasma, globules blancs et globules rouges, après addition d'une solution de nitrate ou de chlorure de cérium à un pH connu, dans le but de préciser les modalités de la fixation du cérium sur les éléments figurés du sang, en particulier sur les globules blancs et d'en déterminer l'importance en fonction du pH de la solution radioactive utilisée.

1 - METHODES EXPERIMENTALES.

A - Prélèvement du sang.

Le sang est prélevé par ponction d'une veine marginale de l'oreille chez un lapin hépariné préalablement par voie veineuse. Les prélèvements sont effectués au moyen de trocarts héparinés. Le sang est recueilli dans des tubes siliconés maintenus à la température de la glace fondante.

Dans ces conditions, le sang est parfaitement limpide et fluide ; l'examen histologique montre des cellules morphologiquement intactes.

B - Marquage.

10 ml de sang sont transvasés dans un flacon parfaitement propre, non siliconé. On ajoute 0,1 ml de solution de sel céreux radioactif (chlorure ou nitrate) de pH connu.

La radioactivité du sang total est déterminée, après destruction d'une partie aliquote à l'acide nitrique, au moyen de l'installation de comptage habituelle.

C - Fractionnement du sang.

De très nombreuses méthodes de fractionnement du sang en ses divers composants ont été proposées.

Le choix d'une méthode de fractionnement du sang, en vue de l'étude de la répartition d'un radioélément est soumis à de nombreux impératifs, imposés par la nécessité de ne pas modifier la distribution du radioélément entre les éléments figurés et les fractions plasmatiques.

Dans le cas étudié, nous disposons d'une quantité de sang limitée à une dizaine de millilitres au maximum, et nous désirons obtenir une séparation aussi quantitative que possible des globules blancs et des globules rouges.

De ce fait, la plupart des méthodes de fractionnement proposées - d'excellentes revues de ces méthodes ont été publiées récemment par Maupin [39] et [40] - doivent être éliminées. Il en est ainsi des méthodes basées sur la destruction élective de certains éléments figurés : méthodes employant un mélange d'acide acétique et d'acide tartrique de P. Szilard [61], ou l'eau alcoolisée de N. Fiessinger [21], celles plus récentes préconisant l'emploi de la saponine, S. Schwartz et coll. [47] ou l'emploi simultané de la gramicidine et de la lysolécithine de T.P. Singer et coll. [56].

Elles visent toutes à la destruction des globules rouges pour obtenir des suspensions de globules blancs. Au cours de ces opérations, le radioélément fixé éventuellement sur les hématies peut soit être libéré dans le milieu, soit suivre le sort des fragments non complètement détruits. Il en est de même de la méthode de séparation des plaquettes sanguines par passage du sang total sur une colonne de résine Dowex 50, proposée par Tullis [63], la résine pouvant fixer directement les cations sous forme ionique et l'élution des plaquettes par l'acétate pouvant modifier en outre la répartition du cation.

Les méthodes basées sur l'addition au sang d'un milieu de densité intermédiaire à celle du plasma et des hématies, méthodes de J.G. Gibson et coll. [23] de l'albumine d'oeuf, ou celle de F. Spears [57] qui met en oeuvre la gomme arabique, sont également à rejeter, l'addition de protéines étrangères étant susceptible de modifier les conditions initiales d'équilibre.

Par contre les méthodes basées sur la sédimentation, accélérée ou non, paraissent utilisables. Cependant la fraction leucocytaire entrainée par les globules rouges n'est pas négligeable (elle peut atteindre 25 % du nombre total des éléments blancs) et l'addition parfois en quantité importante d'agents accélérateurs est soumise à la même critique que celle formulée précédemment.

Le choix d'une méthode de fractionnement est en fait limité aux méthodes de centrifugation sans autre apport de substances étrangères que celui de l'anticoagulant indispensable. Ces méthodes sont encore nombreuses. Le prélèvement par flottation à travers le plasma du tapis leucocytaire ("buffy coat" des auteurs anglo-saxons) obtenu par une centrifugation poussée, est délicat, de rendement faible, et difficilement contrôlable. Ch.G. Craddock et coll. [13] ont proposé le prélèvement du tapis leucocytaire au moyen d'une pipette de large diamètre. La souillure par de nombreux globules rouges est inévitable.

De nombreux tubes à centrifuger, de forme spéciale, ont été proposés : les plus récents sont ceux de Bessis [7] et ceux de Chevillard et Hamon [12] : ils présentent tous deux un rétrécissement médian dans lequel viennent se localiser les globules blancs au cours de la centrifugation. Ceux-ci sont prélevés ensuite par pipettage. Ces tubes sont d'emploi délicat et nécessitent la détermination préalable de l'hématocrite et des conditions de centrifugation très précises. Il en est de même du procédé préconisé par Ottensen [43] : un flotteur spécial, de densité intermédiaire à celle du plasma et des hématies, permet, au cours de la centrifugation, de rassembler les lymphocytes dans son canal médian.

La méthode de centrifugation continue en couche mince proposée par l'école de Cohn-C.L. Emerson [20] et J.L. Tullis [62] - n'est pas applicable à de faibles quantités de sang.

La méthode proposée par Maupin et Chary [40] en 1952, nous parait la plus satisfaisante : après séparation du sang ou d'un milieu déjà enrichi en globules blancs, en trois couches par une centrifugation contrôlée, l'introduction directement au fond du flacon, d'un liquide de densité supérieure à celle des hématies au moyen d'une pipette à double courant, permet la séparation des différentes couches dans l'ordre de densités croissantes. Cette méthode est cependant difficilement applicable à de faibles volumes de sang, du fait des perturbations inévitables apportées à l'ordonnance des couches au moment de l'introduction de la pipette à double courant.

Nous avons été amené à mettre au point une méthode utilisant le principe proposé par Maupin, mais évitant l'introduction de la pipette à double courant, méthode applicable à quelques millilitres de sang (Aeberhardt [3]).

Méthode de fractionnement du sang.

Principe

Le sang est centrifugé dans un ensemble composé de deux tubes concentriques communiquant à la partie inférieure par un trou de faible diamètre. Quelques millilitres de mercure introduits au fond des tubes assurent le maintien du sang dans le tube central pendant la centrifugation. L'introduction contrôlée de mercure dans le tube extérieur permet l'ascension du contenu du tube central. Les différentes fractions séparées par centrifugation sont recueillies dans l'ordre des densités croissantes au moyen d'un dispositif mis en place à la partie supérieure du tube central, après la centrifugation.

Appareillage

Il comprend (figure 22) :

- un tube central en verre épais (2 mm) de diamètre intérieur 12 mm et de longueur 80 à 100 mm. Le fond est percé d'un trou de 1 à 2 mm de diamètre. La section supérieure est parfaitement plane. Deux crochets d'amarrage sont soudés à 5 mm du bord supérieur du tube.

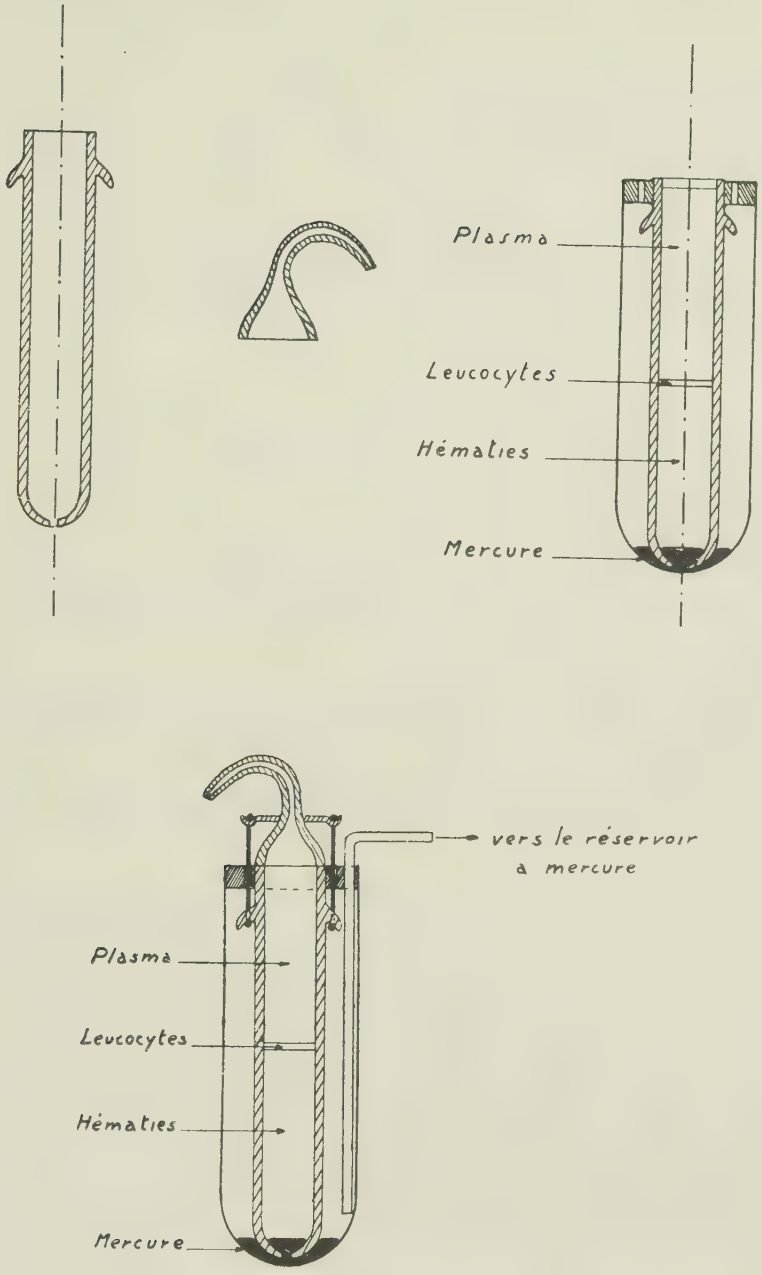


Figure 22 - Dispositif de fractionnement du sang.

- un tube périphérique en matière plastique de 30 mm de diamètre, de même longueur que le tube central.

- un embout de verre adaptable exactement au tube central, dont la partie terminale est recourbée et effilée.

- une pièce métallique en aluminium mince, percée d'un trou central et munie de deux crochets.

- un anneau de liège entrant à force dans le tube de plastique et dont le diamètre intérieur est égal au diamètre extérieur du tube central. Un secteur de 4 à 5 mm a été enlevé.

- un réservoir à mercure muni d'une tuyauterie et d'un embout de 100 mm de long (tube fin pouvant pénétrer dans l'intervalle compris entre les deux tubes). Une pince de Mohr permet le réglage de l'admission du mercure.

Mode opératoire.

Le tube central, siliconé, est placé à l'intérieur du tube de plastique et maintenu en position au moyen de l'anneau de liège placé à la partie supérieure au-dessus des crochets d'amarrage. Deux élastiques sont passés dans ces crochets.

Deux à trois millilitres de mercure sont introduits dans le tube central. Ils se répartissent dans le fond des deux tubes obturant l'orifice central.

Huit à dix millilitres de sang sont introduits dans le tube central, au-dessus du mercure. L'ensemble du dispositif est centrifugé pendant 15 minutes à 1 500 g dans une centrifugeuse maintenue à 4°C.

Après centrifugation, l'embout supérieur est placé sur le tube central, après graissage (graisse aux silicones) des parties en contact, et maintenu par la plaque métallique et les élastiques disposés auparavant.

Le mercure est introduit lentement dans le tube extérieur provoquant l'ascension des différentes couches et permettant de recueillir successivement le plasma, les globules blancs et une fraction des globules rouges.

Pour recueillir la totalité des globules rouges il faut faire la manoeuvre inverse : par élévation de l'ensemble du dispositif, le mercure est renvoyé dans le réservoir, les globules rouges restants reviennent dans le tube central. L'embout supérieur est enlevé. Le tube central est soulevé doucement : les globules rouges ne s'écoulent pas du fait de leur viscosité et ils sont recueillis dans un tube à essai par l'orifice inférieur en secouant légèrement.

Malgré sa simplicité apparente, cette méthode est d'application délicate. En particulier le siliconage du tube central doit être parfait : tout défaut à la surface interne provoque l'adhésion du tapis leucolytaire, empêchant l'ascension des globules blancs.

Pour des conditions de centrifugation données, la formation de la couche de globules blancs est irrégulière, même lorsque les différents échantillons de sang proviennent d'une espèce animale donnée. La couche obtenue doit être homogène, mobile et le stade de "buffy coat" ne doit pas être atteint. Il est indispensable d'autre part que le sang prélevé soit parfaitement fluide, toute altération se traduisant par un manque d'homogénéité de la couche de globules blancs, rendant la séparation de ceux-ci aléatoire.

Cette méthode permet la séparation qualitative et quantitative du plasma, des globules blancs et des globules rouges d'une quantité de sang de l'ordre de 8 à 10 millilitres. Aucune substance étrangère n'a été additionnée. Les conditions de la centrifugation sont peu traumatisantes. Elle peut être faite en centrifugeuse refroidie. Le plasma obtenu ne contient pas d'éléments figurés. La fraction globulaire blanche représente environ 90 % des leucolytes, peu souillés de globules rouges. Le plasma contenu dans les globules rouges représente une fraction non négligeable, du fait même des conditions de la centrifugation. Il est éliminé facilement par deux lavages successifs des hématies en sérum physiologique isotonique suivis de centrifugation. Le liquide résiduel est constitué alors par du plasma dilué.

Détermination de la répartition du cérium.

Afin de déterminer le plus exactement possible la répartition du cérium dans le sang après centrifugation, nous avons mesuré la radioactivité d'échantillons de faible volume recueillis successivement pendant la séparation :

- les trois quarts du plasma sont recueillis dans un tube à hémolyse et pesés. Une partie aliquote est mesurée.

- les dernières fractions du plasma sont recueillies séparément dans plusieurs coupelles.

- la fraction blanche est également recueillie dans une ou deux coupelles distinctes.

- le culot rouge est fractionné en une dizaine de prélèvements.

- un rinçage avec 0,5 ml de sérum physiologique permet de rassembler dans une coupelle la fraction de globules rouges qui adhèrent toujours aux parois.

La radioactivité des divers échantillons est mesurée directement à l'état liquide après avoir ajusté les volumes à une valeur donnée. La mesure est faite avec un écran arrêtant les béta de faible énergie permettant ainsi de minimiser les corrections de self-absorption.

Nous obtenons ainsi une série de valeurs expérimentales représentant la répartition de la radioactivité le long du tube central et permettant de calculer la fraction de la dose initiale fixée ou retrouvée sur les différents constituants du sang.

Deux types de corrections sont apportées à ces valeurs expérimentales :

a) du fait des conditions dans lesquelles la centrifugation est conduite, la quantité de plasma recueillie est toujours inférieure à celle donnée par l'hématocrite (celui-ci étant déterminé par les procédés habituels sur du sang frais). Le plasma non recueilli est inclus dans la fraction rouge. L'importance de cette fraction est connue par la différence entre la valeur de l'hématocrite et la masse de plasma recueillie. Connaissant la radioactivité par gramme de plasma, il est facile de déterminer l'importance de la radioactivité due au plasma résiduel existant dans la totalité de la fraction globulaire rouge.

b) la séparation des globules blancs n'est pas totale à la première centrifugation. Si la majeure partie de ceux-ci est recueillie séparément, une faible fraction apparaît dans la première ou dans la deuxième coupelle de la fraction rouge. Connaissant la radioactivité par gramme de la suspension de globules rouges, la radioactivité due aux globules blancs non séparés est facilement déterminée.

2 - RESULTATS EXPERIMENTAUX.

La répartition du cérium radioactif entre les fractions plasmatique, globulaire blanche et globulaire rouge a été étudiée dans le sang de lapin, in vitro, sang additionné de solutions de nitrate ou de chlorure de cérium 144 sans entraineur, à des pH compris entre 3 et 11.

L'établissement des pourcentages de la dose initiale fixés par les différentes fractions a été effectué suivant la méthode décrite plus haut. Le tableau IX réunit, pour un pH donné, l'ensemble des données expérimentales et les calculs des corrections apportées sont développés pour cette expérience à titre d'exemple.

1) Masse totale du sang fractionné : 7,050 g
Fraction rouge séparée : 3,8 g
Fraction plasmatique séparée : 3,2 g

D'après l'hématocrite, 40 %, on devrait trouver 2,8 g de globules rouges et 4,2 g de plasma. Il y a donc 1 g de plasma dans le culot globulaire rouge.

2) Radioactivité initiale du sang total : 1910 imp/mn/g, soit 1910 x 7,05 = 13500 imp/mn pour le sang total.

Radioactivité retrouvée avec les globules rouges : 1842 imp/mn.

Radioactivité par gramme de plasma (moyenne des trois échantillons mesurés) : 1800 imp/mn.

La radioactivité retrouvée dans le culot globulaire rouge est entièrement due au plasma résiduel.

Radioactivité retrouvée sur les globules blancs : 4000 imp/mn, soit celle des coupelles n° 4 et 5, et 200 imp/mn provenant de la coupelle n° 6 et 150 imp/mn des eaux de lavage considérée arbitrairement comme due aux globules blancs sur les parois.

Bilan de la radioactivité : 92 % de la dose initiale sont retrouvés dans les différentes fractions.

Tableau IX.

Fractionnement du sang
Sang de lapin, in vitro, additionné de
chlorure de cérium sans entraineur à pH 5,6

N° d'ordre des coupelles	Nature de la fraction	Poids du prélèvement	Imp/sec.	Activité par g.
1	Plasma (2,6 g)	0,857	1 493	1 742
2	Plasma	0,333	630	1 870
3	Plasma	0,275	500	1 830
4	Globules blancs	0,077	1 572	20 400
5	Globules blancs	0,066	2 057	31 200
6	Globules rouges et quelques Gobules blancs	0,079	261	3 300
7	Globules rouges	0,615	500	813
8	Globules rouges	0,544	275	505
9	Globules rouges	0,396	173	440
10	Globules rouges	0,189	137	730
11	Globules rouges	0,622	272	440
12	Globules rouges	0,852	234	275
13	Eaux de lavage	-	40	-
14	Eaux de lavage	-	210	-
	Sang total avant fractionnement.....	0,273	520	1 910

3) La répartition est donc la suivante :

Plasma	67 %
Globules blancs	33 %
Globules rouges	0 %

Note : La totalité des globules blancs est pratiquement retrouvée dans les coupelles 4 et 5 soit 140 mg, correspondant à des globules blancs mélangés à du plasma. Les globules blancs seuls pèsent approximativement 30 mg. La radioactivité par gramme de globules blancs est donc de l'ordre de 130 000 imp/mn.

Rapportant cette valeur à une radioactivité initiale du sang total de 10^4 imp/mn (valeur arbitrairement choisie) par gramme de sang, au lieu de 1 910 imp/mn/g de cette expérience, la radioactivité par gramme de globules blancs devient 10^5 imp/mn/g.

Le calcul de la radioactivité par gramme des différents prélèvements permet de juger de la valeur du fractionnement.

Répartition du chlorure de cérium sans entraineur dans le sang total, en fonction du pH de la solution.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau X. Ils sont exprimés en pourcentage de la radioactivité du sang total, retrouvée dans chaque fraction. Ils ont été établis et corrigés conformément aux indications détaillées ci-dessus.

La figure 23 représente les variations de la radioactivité retrouvée avec la fraction globulaire blanche en fonction du pH de la solution de cérium radioactif additionnée au sang total.

Tableau X

Répartition du cérium 144 dans le sang de lapin, in vitro, en fonction du pH de la solution de marquage (chlorure de cérium sans entraineur).

pH	% de la radioactivité initiale retrouvée dans :			Radioactivité par gramme (+)	
	plasma	globules blancs	globules rouges	plasma	globules blancs
3,5	82	18	-	13 600	$4,7.10^5$
5,5	66	34	-	11 000	$8 .10^5$
6,2	17	83	-	2 800	$2 .10^5$
6,8	7	93	-	1 200	$2,2.10^6$
7	24	76	-	4 000	$1,8.10^6$
7,4	75	25	-	10 700	$6 .10^5$
7,8	7	93	-	1 200	$2,2.10^6$
8	12	88	-	2 000	$2,1.10^6$
8,7	7	93	-	1 200	$2,2.10^6$
11,2	4	97	-	650	$2,3.10^6$

(+) en imp/mn dans nos conditions expérimentales de comptage, pour une radioactivité initiale de 1.10^4 imp/mn/g de sang total.

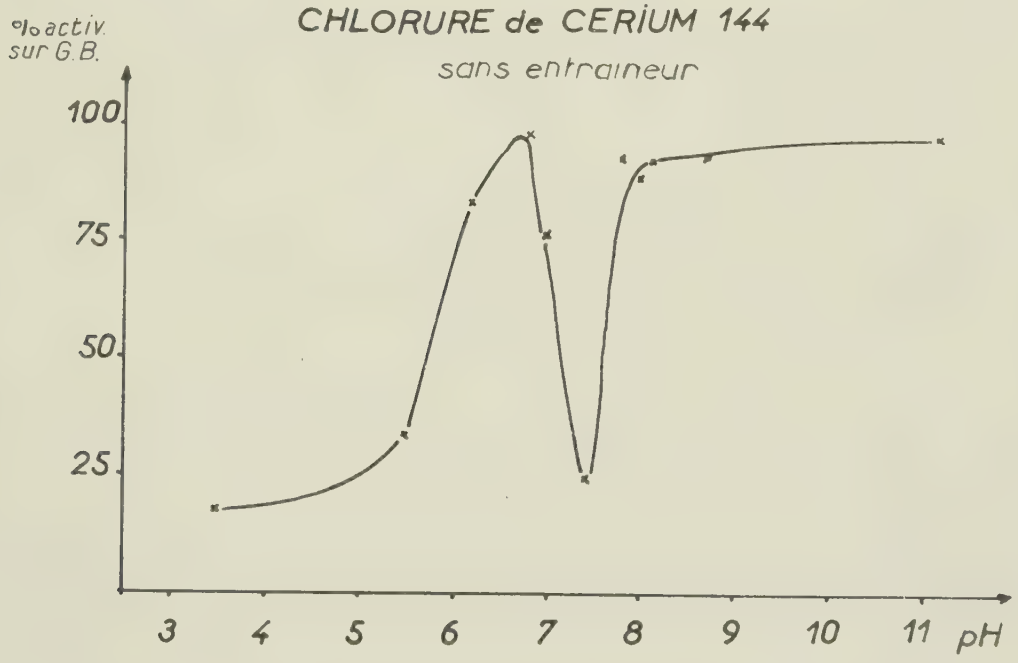


Figure 23 - Radioactivité retrouvée sur la fraction globulaire blanche dans le sang de lapin, in vitro, en fonction du pH de la solution de chlorure de cérium sans entraineur.

Répartition du nitrate de cérium sans entraineur dans le sang total, in vitro, en fonction du pH de la solution de cérium.

Le tableau XI et la figure 24 rassemblent les résultats expérimentaux obtenus après addition d'une solution de nitrate de cérium 144 sans entraineur, à du sang de lapin. La radioactivité retrouvée dans chaque fraction est exprimée en pourcentage de la radioactivité initiale du sang.

Tableau XI

Répartition du cérium 144 dans le sang de lapin, in vitro, en fonction du pH de la solution de marquage (nitrate de cérium sans entraineur).

pH	% de la radioactivité initiale retrouvée dans :			Radioactivité par gramme (+)	
	plasma	globules blancs	globules rouges	plasma	globules blancs
1,8	80	20	-	13 300	5.10^5
3,5	75	25	-	10 700	6.10^5
5	60	40	-	10 000	1.10^6
5,3	5	95	-	850	$2,3.10^6$
5,5	9	91	-	1 500	$2,2.10^6$
5,7	38	62	-	6 300	$1,4.10^6$
6,2	20	80	-	3 300	$1,9.10^6$
6,6	26	74	-	4 300	$1,8.10^6$
6,8	7	93	-	1 200	$2,3.10^6$
8	6	94	-	1 000	$2,3.10^6$
10	3	80	-	850	$1,8.10^6$

(+) en imp/mn dans nos conditions expérimentales de comptage, pour une radioactivité initiale de 1.10^4 imp/mn/g de sang.

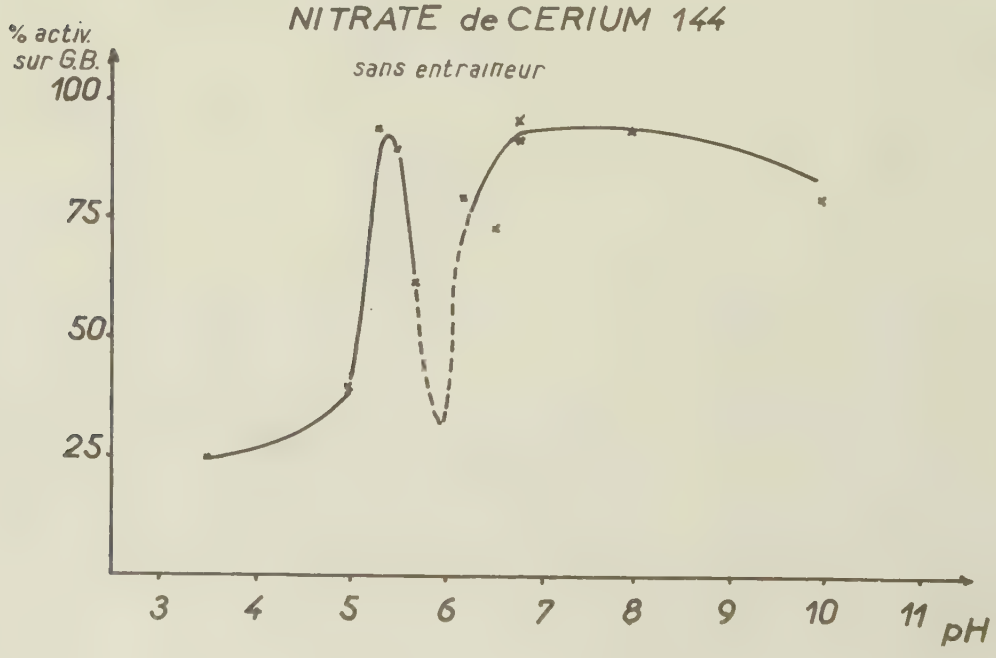


Figure 24 - Radioactivité retrouvée sur la fraction globulaire blanche dans le sang de lapin, in vitro, en fonction du pH de la solution de nitrate de cérium 144 sans entraineur.

Remarque : Les plaquettes sanguines, séparées par centrifugation différentielle, ne sont pas marquées quel que soit le pH de la solution de cérium. Elles n'ont pas été, de ce fait, incluses dans les tableaux précédents.

Rôle de l'incubation dans la répartition du cérium.

Nous avons voulu préciser si la fixation du cérium ionique sur les globules blancs était influencée par un contact prolongé à 37°C. Nous avons déterminé le taux de fixation du cérium 144 sur les globules blancs après une incubation au bain marie à 37°C pendant une et deux heures, utilisant comme solutions de cérium des solutions de chlorure ou de nitrate à différents pH compris entre 3,5 et 6,2.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau XII.

Tableau XII.

Fraction de la radioactivité initiale retrouvée avec les globules blancs après incubation à 37°C.

Nature du sel	pH	Fraction de la radioactivité initiale retrouvée avec les globules blancs.		
		sans incubation	avec incubation 1 heure	avec incubation 2 heures
chlorure de cérium	3,5	18	33	51
	3,8	-	31	53
	5,5	34	49	54
	6,2	83	84	82
nitrate de cérium	1,8	20	35	47
	3,5	25	35	43
	5	40	40	40
	5,3	95	95	95

3 - INTERPRETATION ET DISCUSSION.

Ces résultats expérimentaux suggèrent une fixation du cérium sur les globules blancs dans le sang in vitro. Les autres éléments figurés du sang, globules rouges et plaquettes ne jouent aucun rôle.

L'importance de la fraction du cérium initial retrouvée avec les globules blancs varie en fonction du pH de la solution de cérium utilisée et les courbes obtenues (figures 23 et 24) sont superposables aux courbes de sédimentation des solutions de cérium sauf pour les pH acides.

Cérium ionique.

Le cérium ionique se fixe partiellement sur les globules blancs. Le taux de fixation, peu important lorsque le temps de contact entre le cérium et le sang est réduit, est de l'ordre de 10 à 15 % de la dose initiale. Il présente des variations importantes ; dans certains cas, il n'est que de quelques pourcents. Il augmente dans des proportions notables par un contact prolongé réalisé par une incubation à 37°C pendant une ou deux heures. Il n'est pas modifié par un contact de 24 heures à 4°C.

Cette fixation du cérium ionique par les globules blancs paraît liée à un processus métabolique actif.

Le cérium ionique non fixé par les globules blancs est lié aux γ globulines du plasma, ainsi que nous l'avons montré par électrophorèse.

Cérium colloïdal.

Le cérium colloïdal est retrouvé en totalité avec la fraction blanche. Ces résultats font penser soit à une fixation d'origine métabolique soit à un entrainement du cérium par les globules blancs.

Cependant, aucune propriété colloïdopexique n'a été reconnue jusqu'ici aux globules blancs. Une telle liaison ne pourrait être envisagée que sur la base d'une adsorption immédiate et totale, quelles que soient les dimensions des micelles colloïdales, facilitée par l'existence de charges électriques de signe contraire sur les globules blancs et sur les micelles ; les globules blancs sont chargés négativement, mais nous avons vu que la charge des micelles est positive pour les pH inférieurs à 6,5 et négative dans la zone alcaline.

D'autre part, si une telle liaison existait réellement dans le sang total, in vitro, elle devrait pouvoir être mise en évidence par autoradiographie à l'échelle cellulaire. Or, des autoradiographies de lame de sang, pratiquées après étalement d'une couche de gélatine sensible, la coloration étant effectuée après développement, montrent de nombreuses "étoiles" (caractéristiques des colloïdes) réparties dans la préparation. Aucune de ces "étoiles" ne correspond à un globule blanc sous-jacent : le cérium n'est pas lié aux globules blancs mais reste "libre" dans le plasma.

L'explication des faits observés doit donc être recherchée, non pas dans une liaison globules blancs-cérium, mais dans le comportement d'une suspension hétérogène soumise à la centrifugation.

Le sang est un milieu hétérogène constitué par un liquide de suspension, le plasma, de densité moyenne 1,027 et de viscosité $1,09.10^{-2}$ poise, dans lequel sont suspendus les globules rouges et les autres éléments figurés du sang, les globules rouges étant beaucoup plus nombreux (40 % en volume). Le diamètre moyen des globules rouges est 7µ, leur densité 1,097. La viscosité du sang total est voisine de $2,7.10^{-2}$ poise.

L'hydroxyde de cérium colloïdal constitue des micelles de diamètre, de forme et de densité mal déterminés. Cependant on peut leur attribuer une forme sphérique et une densité comprise entre 3 et 5. Leur diamètre, déterminé par application de la loi de Stokes à partir des vitesses de sédimentation, est comprise entre 10^{-7} et 10^{-4} cm soit entre 10^{-3} et 1µ.

Toute particule placée dans un champ gravitionnel ou centrifuge est soumise à une force de sédimentation qui tend à provoquer sa chute dans le sens du champ, et à des forces de friction qui la retardent. La force de sédimentation est proportionnelle au poids de la particule, soit au cube de son rayon ; les forces de friction sont proportionnelles à sa surface, donc au carré de son rayon. De ce fait, la vitesse de sédimentation est d'autant plus grande que le rayon d'une particule est plus grand.

La loi de Stokes permet de déterminer la vitesse de chute d'une particule sphérique, isolée, dans un milieu de viscosité connue, lorsque cette particule est soumise à un champ d'intensité connue :

$$V = \frac{2\, r^2 (\rho_p - \rho)\, g}{9\, \eta}$$

dans laquelle V est la vitesse de chute en cm/sec., r le rayon en cm, ρ_p et ρ respectivement la densité de la particule et celle du liquide de suspension, g l'accélération du champ et η la viscosité du milieu de suspension en poise.

Dans le sang, une correction doit être apportée à cette formule pour la détermination de la vitesse de chute des globules rouges. En effet, la loi de Stokes s'applique à une particule isolée. Lorsque le nombre de particules existant dans la suspension est grand, des interactions entre particules voisines interviennent, retardant la chute. Ce ralentissement est dû à l'existence de courants fluides de sens opposé. Une correction doit donc être appliquée au coefficient de viscosité du milieu de suspension et cette correction peut être calculée à partir de la formule d'Einstein :

$$\frac{\eta - \eta_0}{\eta} = 2,5\, \varphi_0$$

dans laquelle η est la viscosité du milieu dans lequel les particules occupent un volume relatif φ_0 et η_0 la viscosité initiale du milieu de suspension.

La loi de Stokes permet de calculer la vitesse de chute V_{GR} d'un globule rouge isolé (assimilé à une sphère de 7µ de diamètre) dans le plasma lorsque ce globule rouge est soumis au champ gravitionnel.

$$V_{GR} = \frac{2 \times \overline{3,5}^2 \times 10^{-3} \ (1,097 - 1,027) \ 981}{9 \times 1,09.10^{-2}} \text{ cm/sec.}$$

$$V_{GR} \# 1,7.10^{-4} \text{ cm/sec. soit } 6,2 \text{ mm/heure.}$$

La vitesse de chute d'une particule colloïdale de rayon 0,1 μ et de densité 5 serait :

$$V_c = \frac{2 \times \overline{0,1}^2 \times 10^{-8} \ (5 - 1,027) \ 981}{9 \times 1,09.10^{-2}} \text{ cm/sec.}$$

$$V_c \# 8.10^{-6} \text{ cm/sec. soit } 0,29 \text{ mm/heure.}$$

La correction due à la concentration en globules rouges ne doit être appliquée qu'à ces éléments cellulaires, le colloïde étant à l'état d'indicateur.

La formule d'Einstein, pour φ_0 égal à 0,4 (valeur de l'hématocrite) permet de calculer la viscosité η soit :

$$\eta = 2 \eta_0$$

La viscosité est doublée, et la vitesse de sédimentation des globules rouges devient :

$$V_{GR} = 3,1 \text{ mm/heure.}$$

Notons que, expérimentalement, la vitesse moyenne de sédimentation des globules rouges est 3,7 mm/heure, valeur voisine de celle obtenue à partir de ces formules.

La différence entre la vitesse de sédimentation des globules rouges dans le sang et celle d'un seul globule rouge dans le plasma, soit 3,1 mm/heure, peut être considérée comme représentant la vitesse des courants fluides ascendants au cours de la sédimentation.

Il est possible, ayant déterminé la vitesse des courants ascendants dans le plasma au cours de la sédimentation des globules rouges, de calculer le rayon d'une particule d'hydroxyde de cérium ayant une vitesse de chute égale à la vitesse des courants ascendants. En effet, de la formule de Stokes, on tire :

$$r^2 = \frac{9 \ V \eta}{2 \ (\rho_p - \rho) \ g}$$

Pour une vitesse des courants ascendants de 3,1 mm/heure soit $0,85.10^{-4}$ cm/sec, le rayon des micelles est de :

$$r^2 = \frac{9 \times 0,85.10^{-4} \times 1,09.10^{-2}}{2 \ (5 - 1,027) \times 981} \text{ cm}^2$$

soit : $$r^2 \simeq 10.10^{-10} \text{ cm}^2$$

et : $$r \simeq 3.10^{-5} \text{ cm ou } 0,3 \mu$$

Au cours d'une centrifugation, les rapports des vitesses de chute des deux types de particules et des courants ascendants sont conservés. Toute particule de rayon supérieur à 0,3 μ ne sera pas entrainée par les courants ascendants et, dans ce cas, une fraction de la radioactivité initiale sera retrouvée dans le culot rouge. Toute particule colloïdale de rayon inférieur à 0,3 μ sera, au contraire, entrainée par les courants ascendants vers la partie supérieure du tube à centrifuger. Des particules de 0,1 μ de rayon, dont la vitesse de chute dans le plasma sous l'action de la pesanteur est plus faible que celle des courants ascendants dans les mêmes conditions seront donc, au cours d'une centrifugation, ramenées dans le plasma surnageant. Mais, dans la partie supérieure du tube, les courants ascendants disparaissent, leur vitesse s'annule et les particules colloïdales viendront s'appuyer sur le culot rouge constitué ; elles seront rassemblées dans la couche blanche ou au voisinage immédiat de celle-ci.

Le fait de retrouver les colloïdes d'hydroxyde de cérium avec la fraction blanche après centrifugation doit donc être expliqué, non par une fixation du cérium colloïdal par les cellules blanches du sang, mais comme la conséquence de la centrifugation elle-même.

Dans l'étude des courbes de sédimentation de l'hydroxyde de cérium dans l'eau, nous avons constaté que les vitesses de chute étaient de l'ordre de quelques millimètres par heure. Or, des particules colloïdales de 0,3 μ de rayon, par application de la loi de Stokes, ont, dans l'eau, une vitesse de chute de l'ordre de 5 mm/h. Ce n'est que dans le cas des solutions de nitrate de cérium à pH 11,5 et 13 que les vitesses de chute dépassent 5 mm/h dans l'eau. Ce n'est également que pour les solutions basiques que nous avons constaté, à la partie inférieure du tube à centrifuger, la présence d'une radioactivité nette, de l'ordre de 20 % de la radioactivité initiale. Il s'agit probablement là de micelles colloïdales de dimensions supérieures à 0,3 μ. Dans les solutions à pH inférieur à 8, les micelles auraient un diamètre de l'ordre de 0,1 μ. Nous constatons un accord satisfaisant entre la théorie et nos résultats expérimentaux.

Cette étude montre que le cérium colloïdal reste "libre" dans le plasma, n'établissant aucune liaison avec les éléments figurés du sang. Le cérium ionique se fixe partiellement sur les globules blancs, cette fixation étant probablement due à un processus métabolique actif, le temps de contact et la température d'incubation augmentant dans de notables proportions le taux de fixation. La majeure partie du cérium ionique est cependant liée aux γ et aux β_2 globulines du plasma dans le sang, in vitro.

IV

MODE DE TRANSPORT DU CÉRIUM DANS LE SANG, IN VIVO

Des expériences préliminaires, effectuées chez la souris et chez le rat, nous ont montré que le séjour du cérium, ionique ou colloïdal, dans le sang circulant, après administration intraveineuse, est très court. De ce fait, l'étude du mode de transport de cet élément dans le sang, in vivo, doit être effectuée sur des échantillons de sang prélevés très tôt après l'injection (7 à 15 minutes) pour bénéficier d'une radioactivité par gramme de sang suffisante pour permettre l'application de méthodes analogues à celles utilisées pour les expériences, in vitro.

1 - METHODES EXPERIMENTALES.

a) Lapin. 15 minutes après l'injection, dans la veine marginale de l'oreille, d'une solution de chlorure ou de nitrate de cérium 144 sans entraineur, de pH connu, 10 millilitres de sang sont prélevés à l'autre oreille. Le sang recueilli est immédiatement centrifugé dans le dispositif spécial décrit précédemment. Cependant le temps de centrifugation est réduit au cours de ces expériences afin d'éviter l'entrainement de la totalité des colloïdes avec la fraction blanche, pour permettre l'analyse électrophorétique du plasma.

Une électrophorèse du plasma (tampon véronal sodique à pH 8,6), complétée par l'enregistrement continu de la radioactivité sur la bande d'électrophorèse et par une autoradiographie de cette bande, permettent de préciser la répartition de la radioactivité sur les différentes protéines plasmatiques.

b) Rat. L'injection de la solution radioactive est pratiquée sous anesthésie au nembutal par voie veineuse dans la jugulaire dénudée. 3 et 15 minutes après l'injection, 0,5 millilitre de sang sont prélevés sur héparine par ponction oculaire. 150 à 200 mg de sang sont centrifugés dans un tube de 1,5 mm de diamètre intérieur, (hauteur 8 à 10 cm). Après centrifugation, on recueille par pipettage à la partie supérieure du tube, une fraction aliquote du plasma, quantité nécessaire pour faire une électrophorèse. La radioactivité du sang total, du plasma, des globules rouges est déterminée dans les conditions habituelles. La radioactivité des globules blancs ne peut être précisée dans ces conditions. La répartition du cérium sur les protéines plasmatiques est étudiée par enregistrement de la radioactivité de la bande d'électrophorèse et par autoradiographie.

2 - RESULTATS EXPERIMENTAUX.

a) Lapin.

Injection de cérium ionique (solution de nitrate de cérium sans entraineur en sérum physiologique à pH 3).

90 % de la radioactivité du sang total se trouvent dans le plasma, 10 % sur la fraction blanche. Les globules rouges ne contiennent aucune radioactivité (après correction de la faible quantité de radioactivité due au plasma résiduel).

L'autoradiographie de la bande d'électrophorèse du plasma (figure 25) montre un noircissement important correspondant aux γ globulines et une trainée d'intensité décroissante correspondant aux β_2 globulines.

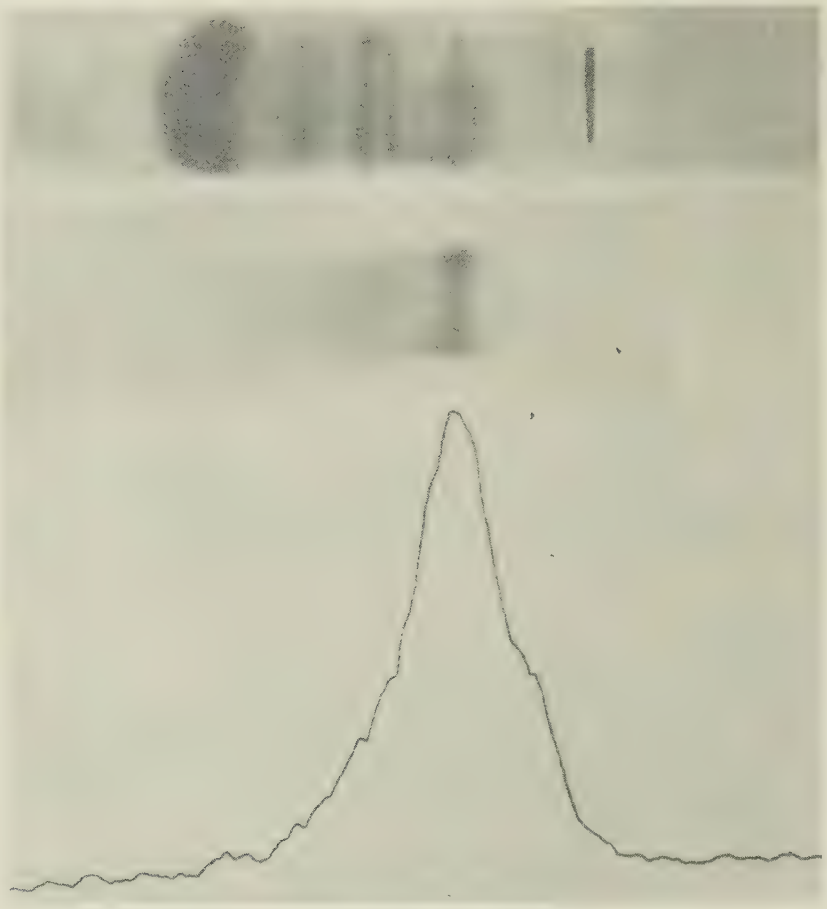


Figure 25 - Electrophorèse de plasma de lapin ayant reçu une injection intra-veineuse de nitrate de cérium sans entraineur, pH 3,-15 minutes après l'injection.

L'enregistrement continu de la radioactivité de la bande d'électrophorèse, avant coloration, fait apparaître un pic dont le maximum correspond aux γ globulines. La décroissance de la radioactivité est rapide du côté des autres globulines, sur toute leur étendue.

Injection de cérium colloïdal (solution de nitrate de cérium sans entraineur en sérum physiologique à pH 7,5).

L'autoradiographie et l'enregistrement continu de la bande d'électrophorèse du plasma (figure 26) montrent l'absence de fixation du cérium sur les protéines plasmatiques, toute la radioactivité reste localisée au point de départ. L'existence de tâches arrondies, isolées dans la zone de dépôt du plasma, constatées sur l'autoradiographie, indique la nature colloïdale du cérium dans le plasma.

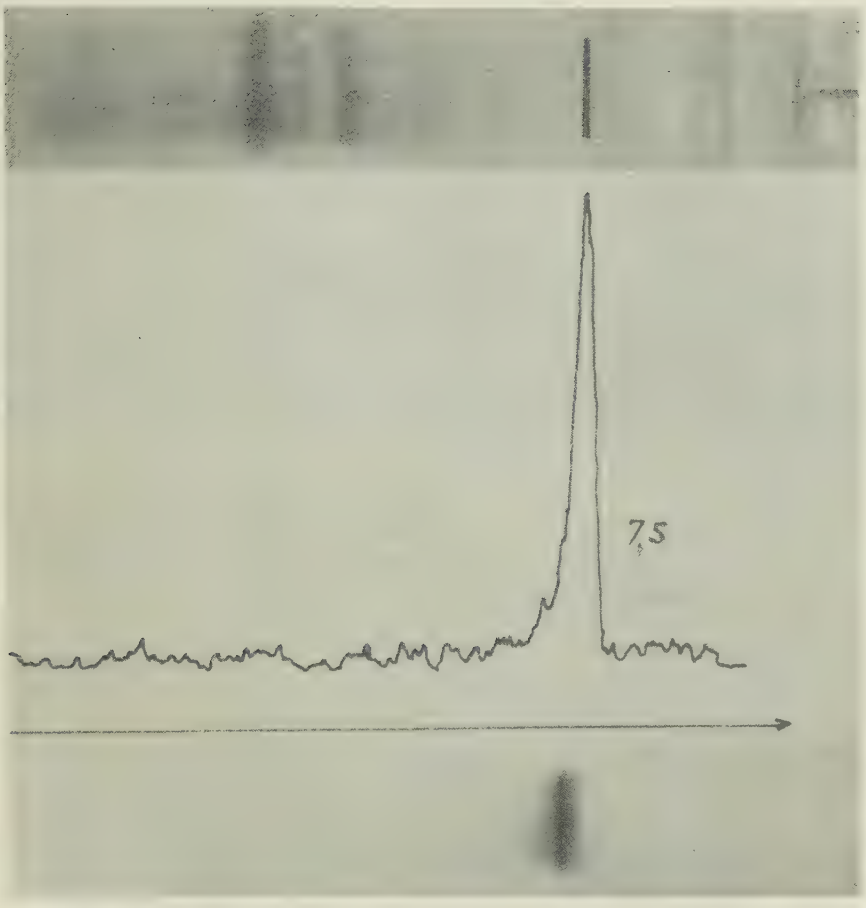


Figure 26 - Electrophorèse de plasma de lapin ayant reçu une injection intra-veineuse de nitrate de cérium sans entraineur, à pH 7,5, plasma prélevé 7 minutes après l'injection.

Nota : Ces résultats n'ont pu être obtenus qu'en effectuant une centrifugation modérée, laissant persister une fraction du cérium colloïdal dans le plasma.

b) Rat.

Injection de cérium ionique (solution de chlorure de cérium sans entraineur à pH 3,5).

Dans les prélèvements effectués 15 minutes après l'injection, 82 % de la radioactivité sont retrouvés dans le plasma et 8 % dans le plasma résiduel de la fraction globulaire rouge. Une faible activité est constatée sur les globules blancs, mais n'a pu être mesurée. Par différence, elle est de l'ordre de 5 à 10 %.

La figure 27 groupe les résultats de l'autoradiographie directe du tube après centrifugation et prélèvement d'une fraction du plasma, et ceux obtenus après électrophorèse. L'autoradiographie directe du tube montre une forte radioactivité du plasma, étendue aux globules blancs ; les globules rouges sont très peu radioactifs. L'autoradiographie et l'enregistrement de la bande d'électrophorèse montrent la fixation du cérium sur les γ globulines et sur les β_2 globulines.

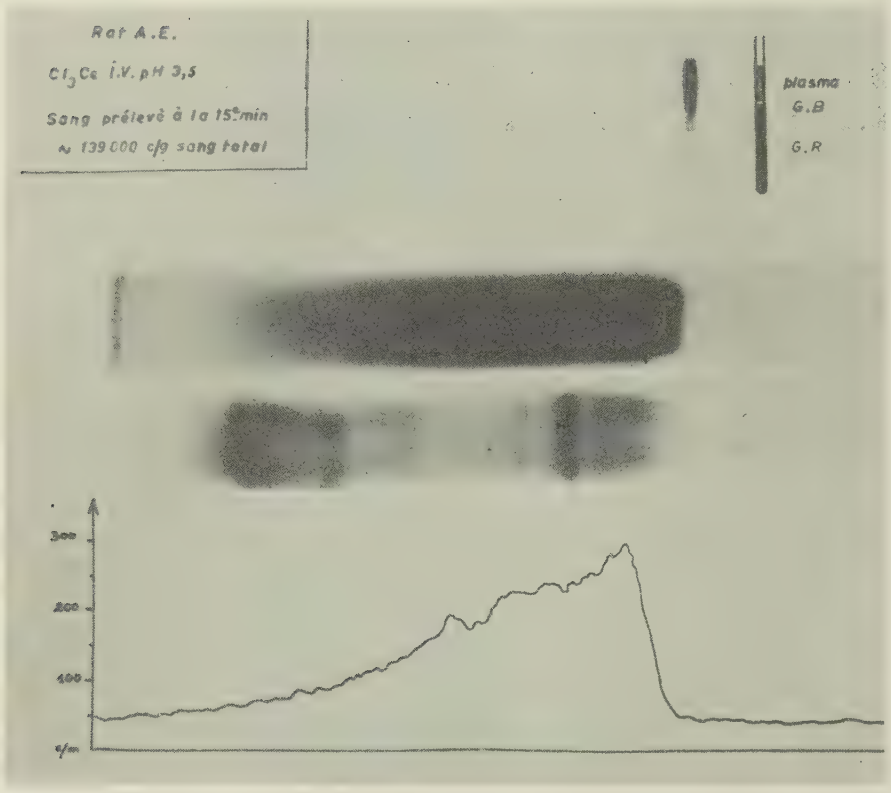


Figure 27 - Electrophorèse de plasma de rat ayant reçu une injection intra-veineuse de chlorure de cérium sans entraineur à pH 3,5, plasma prélevé 15 minutes après l'injection.

Injection de cérium colloïdal (solution de chlorure de cérium sans entraineur à pH 12,5).

Le sang a été prélevé 7 minutes après l'injection. L'enregistrement de la bande d'électrophorèse ne permet aucune conclusion. ; la radioactivité du sang était déjà trop faible pour permettre une mesure valable. L'autoradiographie par contre, montre une tâche arrondie, aux contours nets, localisée au point de départ, superposée à la tache de plasma (figure 28).

Injection d'un mélange comportant les deux phases, ionique et colloïdale en équilibre (solution de chlorure de cérium à pH 6,4).

Le prélèvement de sang a été effectué 3 minutes après l'injection, pour disposer d'un échantillon présentant une radioactivité suffisante :

La répartition de la radioactivité entre les différentes fractions séparées est la suivante :

- plasma 78 %
- globules blancs 8 %
- globules rouges 14 %

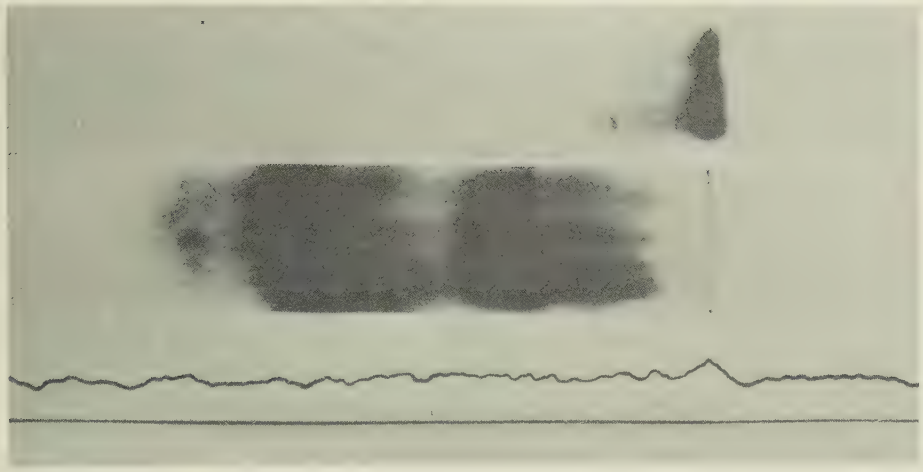


Figure 28 - Electrophorèse de plasma de rat ayant reçu une injection intra-veineuse de chlorure de cérium sans entraineur, pH 12 - plasma prélevé 7 minutes après l'injection.

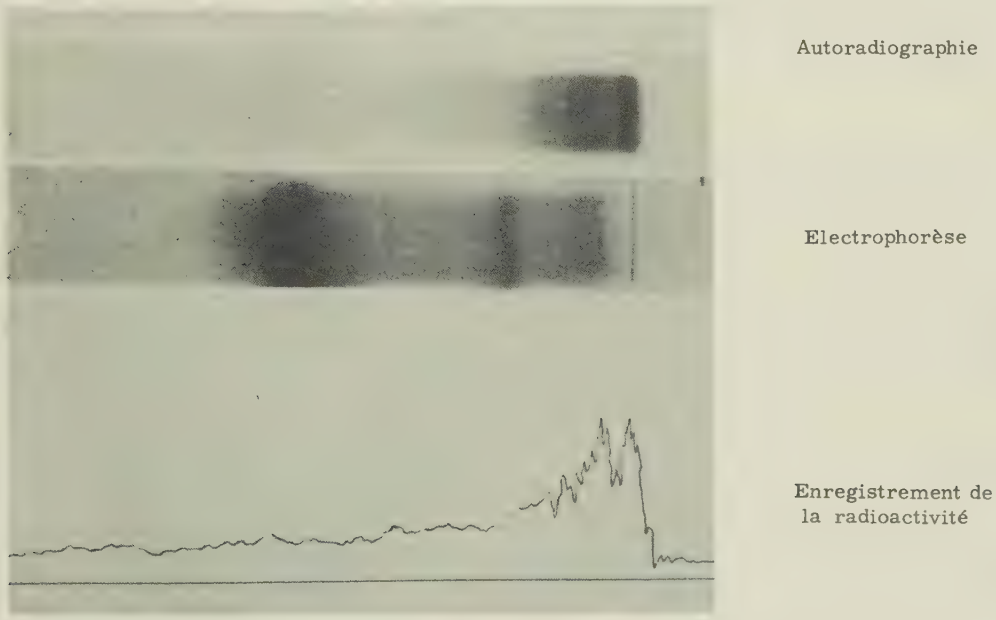


Figure 29 - Electrophorèse de plasma de rat ayant reçu une injection intra-veineuse de chlorure de cérium sans entraineur à pH 6,4. Le prélèvement est effectué 3 minutes après l'injection.

(La fraction retrouvée sur les globules blancs a été obtenue par différence). Le cérium retrouvé dans le culot rouge provient uniquement du plasma résiduel, la centrifugation ayant été de courte durée.

L'enregistrement de la radioactivité le long de la bande d'électrophorèse met en évidence la présence de deux pics distincts de radioactivité, un correspondant à la tache déposée au point de départ et l'autre aux γ globulines. La radioactivité décroit lentement dans la zone correspondant aux autres globulines et est nulle sur les albumines.

Ces résultats sont rassemblés dans la figure 29.

3 - INTERPRETATION.

L'étude du comportement du cérium dans le sang, in vivo, chez le rat et chez le lapin, après injection intra-veineuse de solutions de nitrate ou de chlorure de cérium 144 sans entraineur, conduit à des résultats comparables à ceux obtenus au cours de l'étude in vitro, à partir de sang frais de ces mêmes espèces animales :

- la répartition de la radioactivité sur les bandes d'électrophorèse obtenues à partir de plasma prélevé quelques minutes après l'administration de cérium radioactif, montre une migration du cérium avec les γ et les β_2 globulines dans le cas de l'injection de cérium à l'état ionique (chlorure de cérium à pH 3,5 et nitrate de cérium à pH 3).

- aucune migration du cérium n'est constatée sur les électrophorégrammes obtenus à partir de plasma d'animaux ayant reçu une injection de cérium colloïdal. Des taches arrondies, isolées, localisées à la zone de dépôt du plasma matérialisent l'existence de micelles ou d'agrégats dans le plasma.

- après administration d'une solution comportant les deux phases ionique et colloïdale en équilibre, les deux types de répartition signalées précédemment sont retrouvés simultanément sur l'électrophorégramme.

Les éléments figurés du sang n'interviennent pas dans le transport du cérium : seuls les globules blancs sont faiblement marqués, mais la fixation du cérium ionique par les éléments blancs est faible et inconstante dans les études in vivo.

V

DISCUSSION ET CONCLUSION

Les résultats acquis dans ces différents types d'expériences, soit avec le plasma seul, soit avec le sang, in vitro ou in vivo, nous permettent de préciser le comportement du cérium, chlorure et nitrate de cérium 144 sans entraineur, dans le sang.

Le mode de transport du cérium dans le sang dépend étroitement de la forme physico-chimique sous laquelle cet élément se trouve dans la solution utilisée pour le marquage in vitro ou pour l'injection intra-veineuse, in vivo.

CERIUM IONIQUE.

Le cérium est d'une part, lié à certaines globulines plasmatiques (γ et β_2 globulines) et d'autre part, fixé aux globules blancs.

Ce dernier mode de transport n'intéresse qu'une faible fraction du cérium présent (environ 5 à 10 %). 90 à 95 % du cérium ionique se trouvent liés aux protéines plasmatiques dans le sang. La fixation est élective sur les γ et les β_2 globulines, les autres globulines (α_1, α_2 et β_1) ne participent pas au transport du cérium. Il en est de même de la sérum albumine.

Les globules rouges et les plaquettes ne jouent aucun rôle dans le transport du cérium ionique.

a) Liaison cérium ionique-globuline.

La liaison du cérium avec les γ et les β_2 globulines est immédiate lorsque cet élément est ionique. Elle est réalisée aussi bien in vitro que in vivo, avant que le pouvoir tampon du sang ait pu amener le cérium à un pH voisin de 7, ce qui provoquerait nécessairement sa précipitation sous forme colloïdale.

Cette liaison présente une certaine labilité : elle est rompue à un pH compris entre 5,8 et 6,6 ou en présence d'un agent complexant tel que le citrate de sodium, celui-ci formant avec le cérium un complexe stable et soluble. Cette instabilité en milieu acide explique les résultats obtenus par la précipitation des protéines plasmatiques par l'acide trichloractétique, amenant le pH du milieu à une valeur inférieure à 1. Elle permet également d'expliquer certains résultats de P.W. Durbin et coll. [18] après précipitation par le sulfate d'ammonium.

Ce comportement du cérium ionique parait assez particulier à cet élément : nous avons déjà signalé d'autres éléments établissant des liaisons avec certaines protéines plasmatiques, mais ces liaisons ne sont pas établies spécifiquement avec les γ et les β_2 globulines.

La participation des β_2 globulines a été constatée par les études électrophorétiques alors que la séparation chimique ne montre pas une telle liaison. Cette constatation est d'interprétation délicate : en effet, les γ globulines constituent une fraction protéinique relativement hétérogène. Chez l'homme, elles comprennent des composants dont le point isoélectrique s'étend de 6,3 à 8,3 (en solution 0,08 M NaCl et 0,02 M cacodylate de sodium, de force ionique 0,1), la distribution étant gaussienne avec un maximum à pH 7,32 et l'écart standard est de 0,42 unité pH (Oncley [42]). Une hétérogénéité analogue, de moindre importance cependant, est retrouvée pour les β_2 globulines : le point isoélectrique moyen est 5,8-6,0. La mobilité électrophorétique des γ globulines à pH 8,6, en tampon véronal sodique, de force ionique 0,1, peut être aussi basse que $-0,8.10^{-5}$ et celle des β_2 globulines peut atteindre $-2,2.10^{-5}$. Toutes les mobilités électrophorétiques intermédiaires existent entre ces deux limites pour les γ et pour les β_2 globulines. De ce fait, les électrophorégrammes mettent en évidence un spectre étendu dans lequel se superposent les bandes des γ globulines et

celles des β_2 globulines. Les maxima, habituellement attribués aux γ globulines et aux β_2 globulines, traduisent davantage une concentration plus grande à leur niveau, qu'une séparation rigoureuse.

Ces deux globulines présentent des caractères physico-chimiques très voisins : la plus grande partie de chacune d'elles a un poids moléculaire de 160 000 environ, les molécules étant ellipsoïdales de 350 Å de grand axe et de 40 Å de diamètre équatorial. 3 % des protéines plasmatiques sont des β_2 globulines et 11 % des γ globulines, chez l'homme.

Chimiquement elles sont toutes deux riches en groupements basiques et en sérine. Toutes deux sont le support des anti-corps ; la plupart d'entre eux sont liés aux γ globulines, mais certains sont liés aux β_2 globulines. La séparation chimique des globulines ne conduit jamais à des fractions absolument pures. Il n'apparaît donc pas possible, du fait de cette similitude entre ces deux types de protéines, de préciser si seules les γ globulines transportent le cérium ionique ou si les β_2 globulines participent également à ce transport.

On peut envisager une liaison cérium-γ globuline au niveau des groupements fonctionnels de la sérine, mais nous n'avons aucune preuve permettant d'appuyer cette hypothèse.

b) Liaison cérium ionique-globules blancs.

La fixation du cérium ionique sur les globules blancs a été constatée aussi bien in vitro que in vivo. Cependant, in vivo, le taux de fixation est très faible, moins important que dans les expériences in vitro, sans incubation. Nous avons également constaté que l'incubation à 37°C favorisait la fixation du cérium par les leucocytes.

La formation de complexes entre le lanthane et le sel sodique de l'acide désoxyribonucléique a été constatée en 1924 par Hammersten [29]. Stern et Steinberg [58] ont précisé les conditions de formation de complexes entre les différentes terres rares (lanthane, néodyme, praséodyme, samarium et europium) et le sel tétrasodique de l'acide désoxyribonucléique hautement polymérisé. Le cérium trivalent présente des propriétés analogues (E. Bamann [5]).

Or, les globules blancs sont particulièrement riches en acides nucléiques. Une liaison globules blancs-cérium ionique par formation d'un complexe entre les acides nucléiques et le cérium pourrait être envisagée. Mais dans le plasma, le cérium n'existe que sous forme liée aux globulines. La formation d'un tel complexe ne pourrait se produire qu'après rupture de la liaison cérium-globuline. De plus, les acides nucléiques des globules blancs ne sont pas directement en contact avec le plasma et la pénétration du cérium à l'intérieur du globule blanc serait indispensable.

Nous pensons qu'il s'agit plutôt d'une fixation indirecte du cérium, par l'intermédiaire des globulines. Ce processus, relié aux propriétés connues des globules blancs, est lent, et la quantité de globulines fixées par les globules blancs croit par une incubation à 37°C, alors qu'elle est négligeable ou nulle à 4°C. Des globules blancs, mis en suspension dans leur propre plasma, celui-ci étant marqué au moyen de cérium ionique, fixent lentement le cérium. Le taux de fixation est fonction de la durée du contact et de la température d'incubation (travaux personnels non publiés). L'influence nette, constatée expérimentalement de ces deux facteurs, nous incite à envisager l'intervention d'un processus métabolique indirect plutôt que la formation d'un complexe avec les acides nucléiques. Une adsorption simple du cérium sur les globules blancs ne serait, d'autre part, pas influencée par les facteurs cités précédemment.

CERIUM COLLOIDAL.

Le cérium colloïdal reste libre dans le plasma. Il n'établit aucune liaison avec les protéines plasmatiques ou avec les éléments figurés du sang. Il se comporte de la même manière que les autres colloïdes.

La fixation apparente du cérium colloïdal sur les globules blancs, suggérée par les résultats obtenus après centrifugation, in vitro et in vivo, n'est pas confirmée par les autoradiographies de sang total. Nous avons, par l'étude des lois de la sédimentation, constaté que la présence du cérium colloïdal dans la fraction blanche, pouvait être expliquée sans intervention d'un processus de fixation par les leucocytes.

Ce double comportement du cérium et la dualité des modes de transport in vivo sont trouvés lorsque la solution utilisée comporte les deux phases ionique et colloïdale en équilibre : la fraction de cérium à l'état colloïdal reste libre dans le plasma et la fraction ionique est liée aux γ globulines et aux β_2 globulines, les globules blancs ne fixant qu'une faible partie du cérium ionique.

Ces résultats vont à l'encontre de la théorie du devenir colloïdal du cérium dans les milieux biologiques. Le cérium n'est retrouvé à l'état colloïdal dans le sang que s'il était déjà dans cet état dans la solution de marquage ou d'injection. Différentes preuves expérimentales ont été apportées et, aussi bien dans le plasma seul que dans le sang total in vitro et in vivo, les résultats expérimentaux sont concordants.

De ce fait, l'importance de la forme physico-chimique du cérium dans la solution d'administration apparaît clairement : la distribution dans les différents organes, la cinétique de la distribution du cérium dans le sang après injection intra-veineuse, doivent dépendre de l'état ionique ou colloïdal de cet élément, le mode de transport étant différent. Afin de confirmer ce point de vue, nous avons pratiqué une série d'expériences chez le rat au cours desquelles nous avons étudié d'une part la cinétique de la disparition du cérium ionique et du cérium colloïdal dans le sang, après injection intra-veineuse et d'autre part la distribution du cérium dans les différents organes. Cette étude a été limitée à la phase de distribution primaire, la phase de redistribution secondaire faisant intervenir des éléments nouveaux, non nécessairement liés aux facteurs responsables de la distribution primaire.

TROISIÈME PARTIE

APPLICATION
DISTRIBUTION INITIALE DU CÉRIUM CHEZ LE RAT APRÈS INJECTION INTRA-VEINEUSE

Le but de ce travail étant surtout de préciser le ou les modes de transport du cérium au cours de la phase sanguine après administration par voie veineuse, nous n'avons pas étudié systématiquement la distribution du cérium dans l'organisme. Nous nous sommes bornés à étudier, à titre d'application des données acquises au cours des expériences précédemment décrites, la distribution initiale du cérium dans les différents organes fixateurs. La phase de distribution initiale est considérée comme achevée lorsque la radioactivité du sang devient négligeable (moins de 1 % de la dose initiale). Pour déterminer à quel moment après l'administration intra-veineuse la distribution initiale est réalisée, nous avons effectué une étude de la cinétique de la radioactivité du sang dans différentes conditions. Cette étude apporte quelques données intéressantes sur les modalités de la distribution initiale.

I

ÉTUDE CINÉTIQUE DANS LE SANG

Cette étude a été effectuée d'une part dans le sang total et d'autre part dans les fractions protéiniques (γ et β_2 globulines) vectrices du cérium ionique.

1 - SANG TOTAL.

Les expériences préliminaires ont permis de mettre en évidence une décroissance rapide de la radioactivité du sang circulant après injection intra-veineuse d'un sel céreux sans entraineur, en milieu physiologique. La vitesse de décroissance est fonction du pH de la solution d'administration, donc de l'état ionique ou colloïdal du cérium, mais, dans tous les cas, au bout de quelques heures, la radioactivité du sang circulant est inférieure à 1 % de la dose injectée.

Nous avons donc utilisé des solutions dans lesquelles le cérium est totalement sous forme ionique ou totalement sous forme colloïdale et nous avons pratiqué les prélèvements de sang à des intervalles aussi rapprochés que possible après l'injection.

Méthodes expérimentales.

0,5 ml d'une solution de nitrate de cérium sont injectés par voie jugulaire à un rat légèrement anesthésié ($^{144}_{58}Ce$ - $^{144}_{59}Pr$ sans entraineur). Sur la table de contention, la partie inférieure de l'animal est réchauffée au moyen d'une lampe infra-rouge dans le but de provoquer une vasodilatation dans la queue de l'animal. Les prélèvements de sang (une à deux gouttes) sont obtenus par section du bout de la queue. L'hémostase est assurée par une pince à hémostase placée juste au-dessus de la section. Avant chaque prélèvement, deux ou trois gouttes de sang sont rejetées. Les prélèvements sont pratiqués toutes les minutes à partir de la troisième minute suivant l'injection pendant 10 minutes et toutes les 10 minutes ensuite.

Le sang recueilli est minéralisé à l'acide nitrique après pesée de l'échantillon. Sa radioactivité est mesurée dans les conditions habituelles et elle est rapportée à un gramme de sang. Elle est exprimée en pourcentage de la dose injectée pour la totalité du sang, considéré comme représentant 6,3 % du poids du corps. Il n'a pas été tenu compte de la perte de radioactivité due aux prélèvements : cette perte est en effet faible par rapport à la radioactivité totale du sang et peut être négligée.

Les solutions d'injection ont été choisies en fonction des données des courbes de sédimentation et ne sont utilisées que lorsque les courbes de sédimentation sont reproductibles :

- solution de cérium ionique (nitrate de cérium à pH 4),
- solution de cérium colloïdal (nitrate de cérium à pH 8 et chlorure de cérium à pH 11),
- solution comportant les deux phases en équilibre (nitrate de cérium à pH 5,6, comportant 34 % de cérium sous forme colloïdale et solution de cérium, chlorure, à pH 6,3 comportant 14 % de cérium sous forme colloïdale.

Résultats expérimentaux.

Les résultats expérimentaux sont rassemblés dans le tableau XIII. Ils sont exprimés en pourcentage de la dose injectée et représentent la moyenne de 3 à 5 rats pour chaque solution. La figure 30 a été établie d'après ces données.

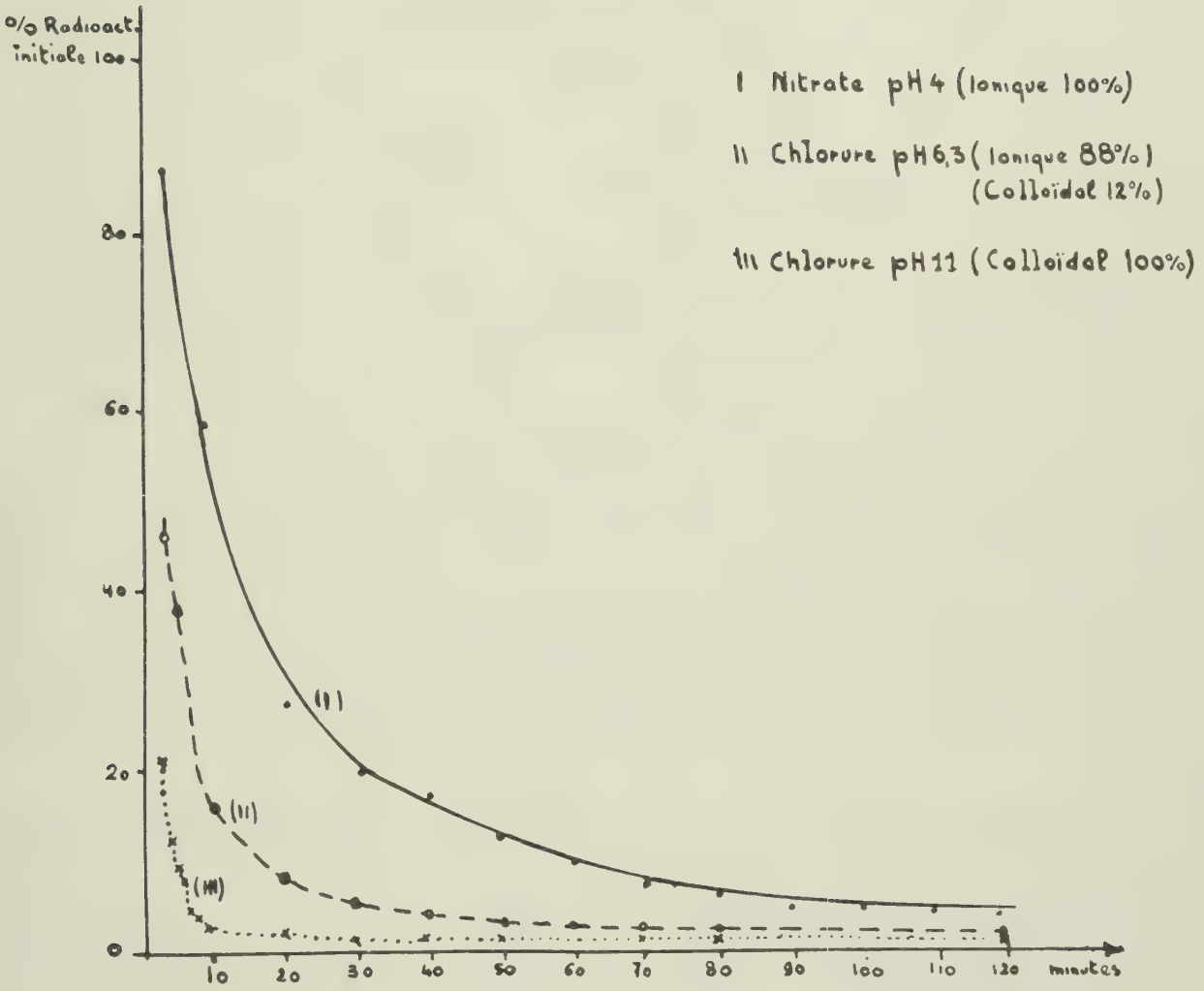


Figure 30 - Evolution de la radioactivité du sang en fonction de l'état physico-chimique du cérium après injection intra-veineuse chez le rat.

Tableau XIII

Evolution de la radioactivité du sang circulant chez le rat, après injection intra-veineuse de cérium, en fonction de l'état physico-chimique (en % de la dose injectée)

Nature du sel injecté	Etat (+)	Temps après l'injection (minutes)												
		3	5	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	120
Nitrate de cérium pH 4	I	88	-	52	28	20	18	14	10	8	7	5	5	4
Nitrate de cérium pH 8	C	19	-	3	2	2	1	0,9	0,8	-	0,7	-	0,6	0,5
Chlorure de cérium pH 11	C	22	9	3	2	1	0,9	0,8	0,7	0,7	0,7	0,6	0,6	0,5
Nitrate de cérium pH 5,6	I+C (1)	40	-	8	4	3,5	3	2	1,8	1,5	1	1	0,9	0,7
Chlorure de cérium pH 6,3	I+C (2)	38	30	15	8	5	4	3	2,5	2	1	1	0,9	0,8

(+) I = état ionique C = état colloïdal.

(1) 34 % sous forme colloïdale et 66 % sous forme ionique.

(2) 14 % sous forme colloïdale et 86 % sous forme ionique.

Nota - Des prélèvements supplémentaires ont été effectués entre 2 et 10 minutes pour le nitrate de cérium à pH 8 et pour les solutions de chlorure à pH 11. Les résultats obtenus ont été utilisés pour établir les courbes de la figure 30.

Remarque - Le tableau précédent représente les moyennes de 3 à 5 rats pour chaque solution. Il ne laisse pas apparaître de ce fait, les variations individuelles existant aux temps courts : elles peuvent atteindre 10 à 20 % pendant les premières minutes, mais à partir de la dixième minute, la fraction de la dose injectée retrouvée dans le sang est très voisine chez tous les animaux d'une même série.

Interprétation.

Ces résultats montrent que la vitesse de disparition du cérium dans le sang circulant est fonction de l'état physico-chimique de cet élément dans la solution administrée.

Cérium ionique.

La fraction de la dose injectée retrouvée dans le sang diminue lentement pendant la première heure après l'injection. Après ce laps de temps, il persiste 10 % de la dose initiale dans le sang. Deux heures après l'injection, il reste encore 4 à 5 % de la dose administrée dans le sang.

Cérium colloïdal.

La disparition du cérium dans le sang circulant est très rapide : 10 minutes après l'injection, 3 % seulement de la dose injectée sont retrouvés dans le sang. 60 et 120 minutes après l'injection, il ne reste respectivement que 0,7 et 0,5 % de la dose administrée dans le sang circulant.

Quel que soit l'état physico-chimique du cérium administré, la radioactivité du sang, 24 heures après l'injection, reste très faible, et elle est voisine de celle constatée à la 60ème ou à la 120ème minute.

Les courbes, tracées en coordonnées semi-logarithmiques mettent en évidence les différences de comportement constatées par l'examen des résultats expérimentaux. L'analyse graphique de ces courbes conduit à la mise en évidence, lorsque la totalité du cérium injecté est sous forme ionique, de deux termes exponentiels auxquels on peut attribuer des "périodes" différentes. Dans le cas du cérium colloïdal, un seul terme exponentiel est isolé. Elle permet, en outre, d'attribuer à chacun des termes exponentiels, un coefficient qui correspond à la fraction de la radioactivité initiale dépendant de ce terme. Les données obtenues par l'analyse graphique sont rassemblées dans le tableau XIV.

Tableau XIV

Etude graphique des courbes de la figure 30.

Nature du sel et pH	Période A	Fraction du cérium initial dépendant de "A" (x)	Période B	Fraction du cérium initial dépendant de "B" (x)
Nitrate de cérium pH 4	7 mn	76	46 mn	24
Nitrate de cérium pH 8	1 à 2 mn	100	néant	-
Chlorure de cérium pH 11	1 à 2 mn	98	néant	-
Nitrate de cérium pH 5,6	1 à 2 mn	85	33 mn	15
Chlorure de cérium pH 6,3	1 à 2 mn	80	30 mn	20

(x) exprimée en % de la dose de cérium initiale.

Ce tableau montre que :

1) la disparition du cérium ionique dans le sang est complexe : 75 % du cérium lié aux globulines sont rapidement éliminés du sang avec une période de 7 minutes, la fraction restante (25 %) quitte le sang plus lentement avec une période de l'ordre de 45 minutes,

2) par contre, à l'état colloïdal, le cérium quitte très rapidement le sang circulant. On peut attribuer à ce processus une période de 1 à 2 minutes, et celle-ci correspond à la totalité des colloïdes présents.

3) les résultats de l'analyse graphique des courbes correspondant aux solutions dans lesquelles les deux phases ionique et colloïdale sont en équilibre, sont d'interprétation plus délicate. En effet, on devrait retrouver dans ce cas, trois périodes : une de l'ordre de 1 à 2 minutes, correspondant à la fraction colloïdale du mélange, une seconde de l'ordre de 7 minutes, correspondant à la fraction ionique à disparition rapide et une troisième, plus lente, de l'ordre de 45 minutes, correspondant à la fraction ionique à disparition lente.

L'analyse graphique de ces courbes ne permet de mettre en évidence que deux périodes : une très courte, de l'ordre de 1 à 2 minutes correspondant à 80 ou 85 % du cérium injecté, et l'autre de 30 à 35 minutes correspondant à 20 ou 25 % du cérium administré. Ces faits paraissent devoir être reliés d'une part au procédé d'analyse graphique qui ne permet pas d'obtenir les périodes avec une bonne précision, et d'autre part à l'imprécision du tracé des courbes à partir de points représentant les moyennes de résultats expérimentaux obtenus chez un nombre limité de rats. L'établissement de courbes par enregistrement continu de la radioactivité du sang, in vivo, n'a pu être envisagé pour des raisons techniques. L'analyse de telles courbes apporterait vraisemblablement des résultats plus précis.

Cette analyse montre cependant que le comportement du cérium en solutions mixtes (ionique et colloïdale) peut être considéré comme résultant de la mise en oeuvre simultanément de deux processus indépendants, l'un se rapportant à la fraction ionique du cérium, l'autre relatif au cérium à l'état colloïdal. La fraction de l'activité initiale correspondant à la période longue est en effet de l'ordre du quart de celle du cérium sous forme ionique dans la solution utilisée, proportion voisine de celle trouvée pour le cérium totalement ionique (nitrate de cérium à pH 4).

Ces résultats expérimentaux montrent une dualité de comportement du cérium dans l'organisme, dualité qui se traduit, au cours de la phase sanguine après administration intra-veineuse, par une cinétique du cérium dans le sang, beaucoup plus lente pour la phase ionique liée aux γ globulines que pour la phase colloïdale. Cette constatation est importante, car elle doit se traduire par une distribution différente dans le temps, sinon dans les organes, suivant l'état physico-chimique du cérium dans la solution utilisée pour l'administration de cet élément.

Nous avons pensé obtenir quelques renseignements complémentaires en étudiant l'évolution de la radioactivité dans les fractions du sang vectrices du cérium ionique.

2 - FRACTIONS DU SANG.

Ces expériences ont été effectuées chez le rat et chez le lapin. Elles ont été limitées à des intervalles de temps courts après l'injection ; les autoradiographies et les enregistrements des bandes d'électrophorèse exigent en effet une radioactivité par gramme de plasma élevée et limitent de ce fait les possibilités expérimentales aux 10 à 20 minutes consécutives à l'injection.

Méthodes expérimentales.

Rat : La solution radioactive est injectée par voie veineuse dans la jugulaire du rat et les prélèvements sont effectués par ponction oculaire à des intervalles de temps compris entre 3 et 15 minutes après l'injection.

Sur chaque échantillon, on effectue :

- une mesure de la radioactivité totale du sang,
- une centrifugation en tube mince,
- une électrophorèse du plasma et sur la bande d'électrophorèse, un enregistrement continu de la radioactivité ainsi qu'une autoradiographie avant coloration,
- une détermination de la radioactivité du plasma et de la fraction globulaire rouge. La radioactivité des globules blancs est appréciée par différence.

Lapin : La solution radioactive est injectée par voie veineuse dans la jugulaire du lapin anesthésié ; la carotide a été cathétérisée au moyen d'un tube fin de polythène. A des intervalles donnés après l'injection, un prélèvement de 6 à 8 ml de sang est effectué, après rejet des premiers ml de sang écoulés. Il est possible d'effectuer ainsi trois prélèvements successifs sur le même animal sans modifier d'une façon anormale la masse sanguine.

Sur chaque prélèvement, le fractionnement est effectué au moyen du dispositif décrit précédemment (p.50). La radioactivité de chaque fraction est mesurée dans les conditions habituelles.

Résultats expérimentaux.

Rat : La solution injectée est une solution de chlorure de cérium sans entraineur ($^{144}_{58}Ce$ - $^{144}_{59}Pr$) amenée successivement aux pH 3, 6,4 et 11. Le cérium est totalement ionique dans la solution à pH 3, totalement colloïdal dans celle à pH 11 et les deux phases ionique et colloïdale coexistent (40 % de cérium colloïdal) dans la solution à pH 6,4.

L'expérimentation a porté sur trois rats pour chaque solution.

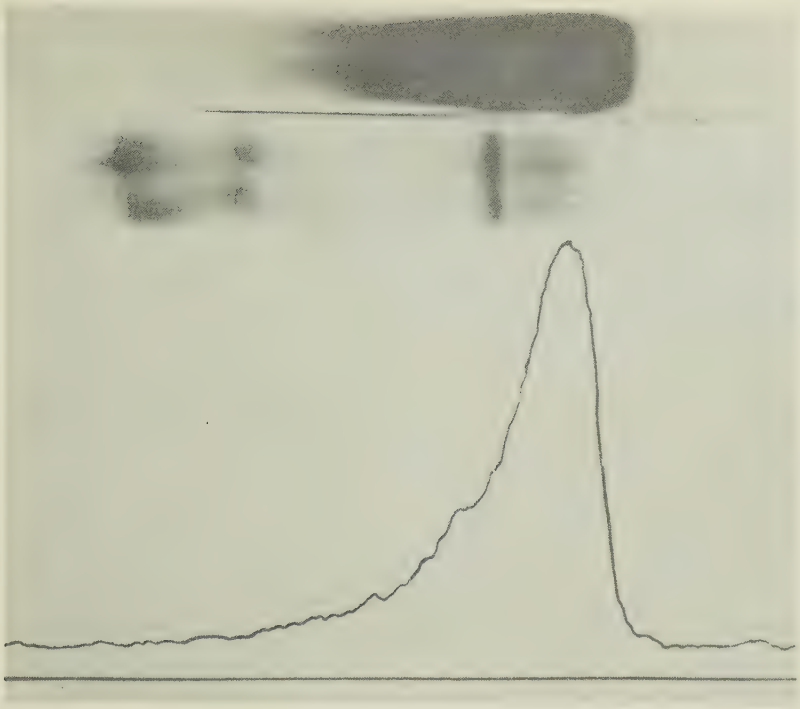
La répartition entre les fractions séparées dans le sang est exprimée en pourcentage de la dose initiale injectée (Tableau XV).

Tableau XV

Répartition du cérium entre les fractions du sang en fonction du temps (% de la dose injectée)

Nature de la fraction	Radioactivité (% de la dose injectée)							
	pH 3 (ionique)			pH 6,4 (40 % colloïdal)			pH 11 (colloïdal)	
	3 mn	7 mn	15 mn	3 mn	7 mn	15 mn	7 mn	15 mn
Sang	74	53	39	89	64	14	7,6	5,7
Plasma	69	49	36	77	60	13	7,6	5,7
Globules blancs	3,5	4	3	12	4	1	-	-

Les résultats obtenus à partir des électrophorèses sont reproduits ci-dessous, pour les solutions à pH 3 et à pH 6,4 aux intervalles suivants : 3, 7 et 15 minutes après l'injection (Figures 31 à 36).

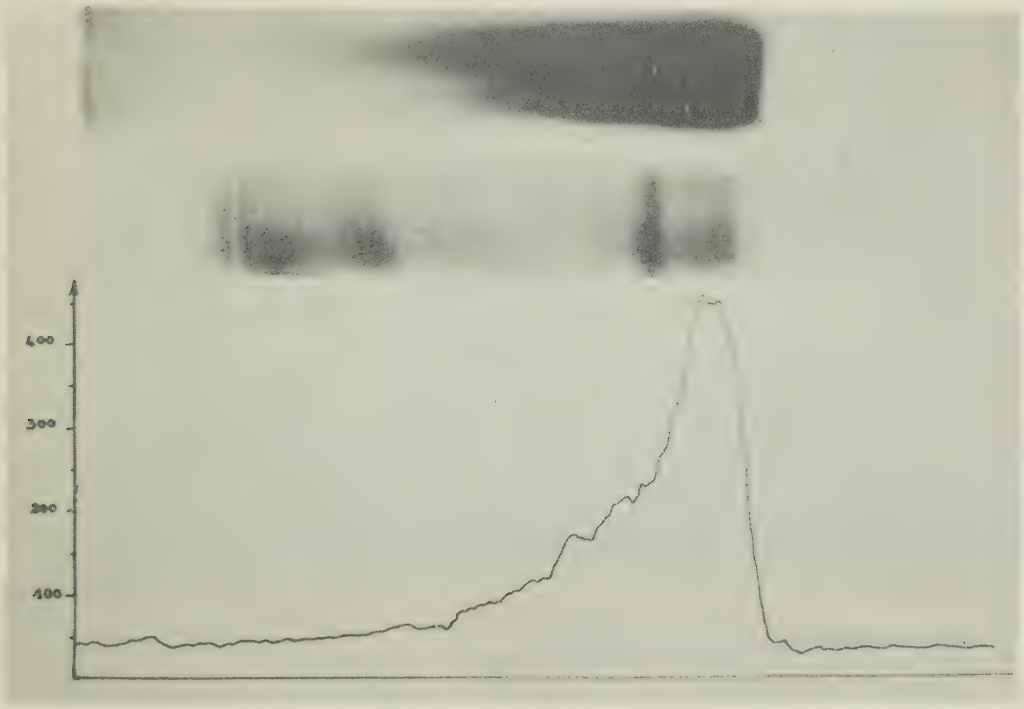


Autoradiographie

Electrophorèse

Enregistrement de
la radioactivité

Figure 31 - Chlorure de cérium pH 3 - Prélèvement à la 3ème mn.



Autoradiographie

Electrophorèse

Enregistrement de
la radioactivité

Figure 32 - Chlorure de cérium pH 3 - Prélèvement à la 7ème mn.

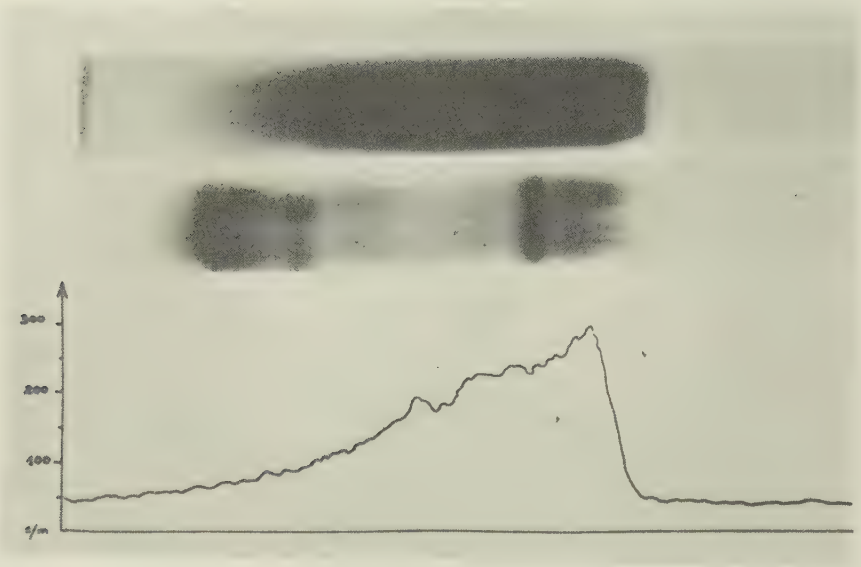


Figure 33 - Chlorure de cérium pH 3 - Prélèvement à la 15ème mn.

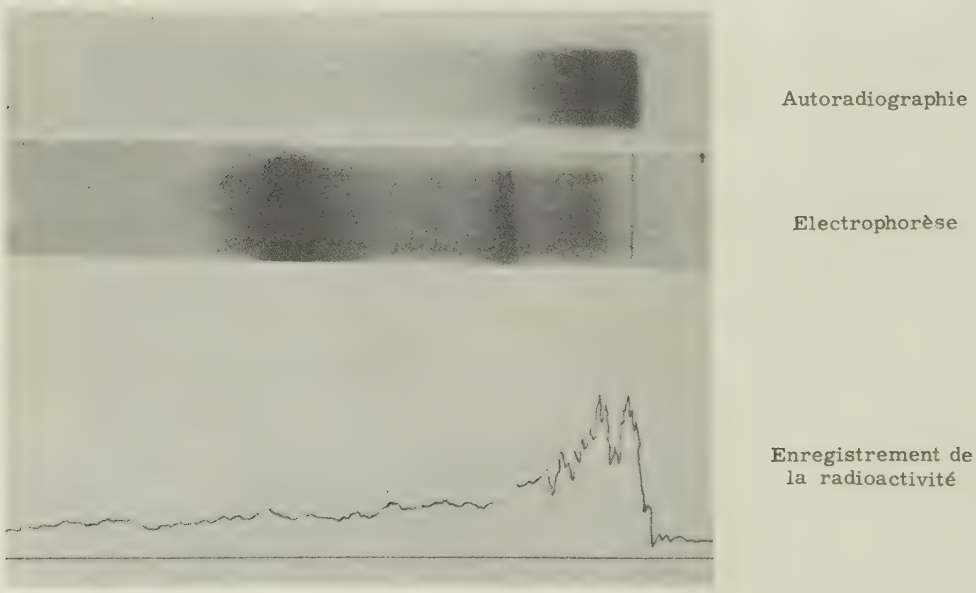


Figure 34 - 3 minutes après l'injection.

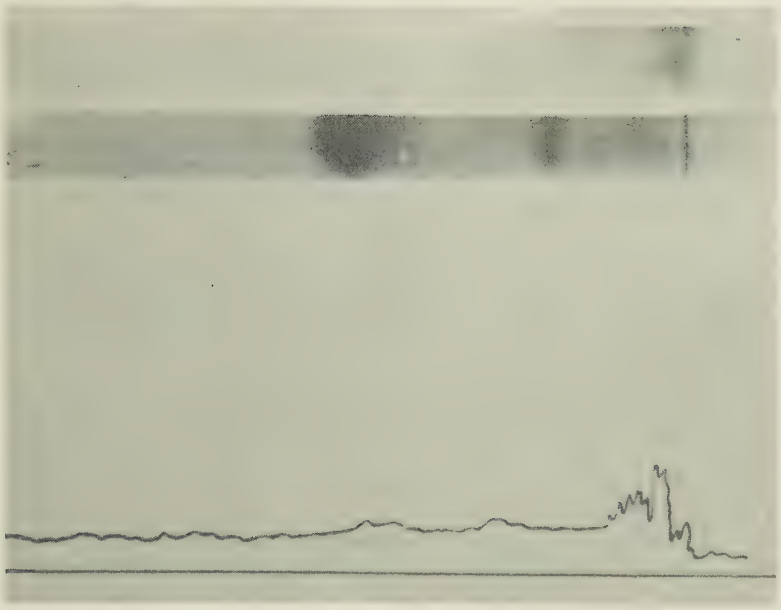


Figure 35 - 7 minutes après l'injection.

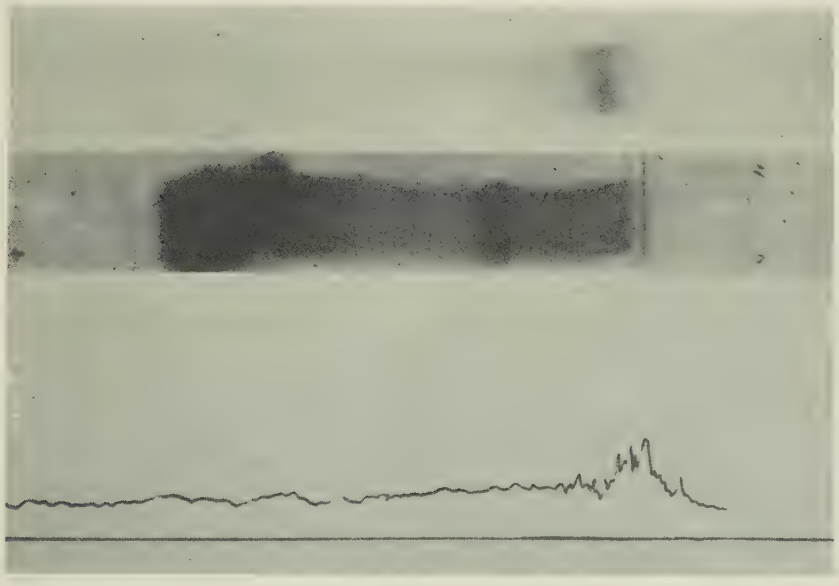


Figure 36 - 15 minutes après l'injection.

Lapin : La répartition entre les différents constituants du sang a été étudiée après injection d'une solution de chlorure de cérium à pH 3,6 dans laquelle le cérium est pratiquement ionique en totalité. Les prélèvements ont été effectués 15, 35, 60, 85 et 95 minutes après l'injection (Tableau XVI).

Tableau XVI

Répartition de la radioactivité entre les différents constituants du sang chez le lapin en fonction du temps - Chlorure de cérium à pH 3,6.

Temps (minutes)	% de la dose initiale				% de la radioactivité du sang à l'instant du prélèvement		
	sang	plasma	G.B.	G.R.	plasma	G.B.	G.R.
15	28	23	2,9	0	89,4	10,6	0
32	14	13	1,2	0	92	8	0
60	8	7	1	0	90	10	0
85	5,2	5	0,2	0	95	5	0
95	4,2	4	0,2	0	94	6	0

Les électrophorèses de plasma de lapin, à 15 et à 32 minutes après l'injection sont analogues à celles obtenues avec le plasma de lapin après injection de cérium ionique. Elles ne sont pas, de ce fait, reproduites ici.

3 - INTERPRETATION.

Les résultats obtenus au cours de ces séries expérimentales chez le rat et chez le lapin confirment ceux acquis aux cours des expériences précédentes, montrant la dualité des modes de transport et l'importance de l'état physico-chimique du cérium dans les solutions utilisées pour les injections.

Des renseignements complémentaires peuvent être tirés de cet ensemble de résultats :

A - Solutions ioniques.

a) La répartition du cérium ionique entre le plasma (γ et β_2 globulines) et les globules blancs, reste pratiquement constante pendant la durée de la phase sanguine de la radiointoxication. 90 % du cérium sont transportés par le plasma sous forme liée aux globulines, et 10 % le sont par les globules blancs. De ce fait, la vitesse de disparition du cérium dans le plasma conditionne la disparition de cet élément dans le sang.

b) L'étude de la répartition du cérium entre les γ et les β_2 globulines, en fonction du temps, fait apparaître un fait nouveau :

Les enregistrements continus ainsi que les autoradiographies montrent, aux temps rapprochés (3 mn) une fixation importante sur les gamma globulines et une fixation faible sur les β_2 globulines. 15 minutes après l'injection, la répartition sur les globulines présente un aspect différent : sur l'enregistrement, le pic correspondant aux γ globulines s'est nettement estompé, alors que la radioactivité présente sur les β_2 globulines ne paraît pas avoir subi de diminution importante. L'étude des surfaces sous-jacentes à chaque fraction globulinique (surfaces limitées arbitrairement par une verticale tracée au-delà de la tache des gamma globulines) montre que la décroissance de la radioactivité du plasma peut être attribuée principalement à la disparition de la fraction globulinique gamma marquée, pendant les 15 minutes consécutives à l'injection.

Le cérium ainsi lié aux globulines présente un comportement différent en fonction du type de globulines sans qu'il soit possible de préciser davantage sur le plan quantitatif en particulier, par la méthode utilisée.

B - Solutions colloïdales.

Le cérium colloïdal est totalement "libre" dans le plasma. L'évolution de la radioactivité du plasma reflète exactement celle du sang.

C - Solutions comportant les deux phases en équilibre.

L'évolution de la radioactivité du plasma est le résultat de la fuite rapide de la fraction du cérium à l'état colloïdal et de la disparition plus lente de la fraction ionique liée aux globulines. La vitesse de disparition du cérium dépend de l'importance relative des deux phases.

Sur les électrophorégrammes obtenus à partir des échantillons prélevés 3 et 7 minutes après l'injection chez le rat, la coexistence d'une phase libre colloïdale et d'une phase liée aux globulines est mise en évidence par la présence de deux taches visibles à l'autoradiographie : une au point de dépôt du plasma et l'autre correspondant aux globulines. Par contre, conformément aux résultats cités plus haut, la phase libre colloïdale n'apparaît plus sur les autoradiographies faites avec le plasma des échantillons prélevés à la 15ème minute, le colloïde ayant déjà quitté le sang circulant.

Discussion.

L'étude de la cinétique du cérium dans le sang circulant et dans les différents constituants du sang vecteurs du cérium, chez le lapin et chez le rat, confirme, in vivo, l'importance de la forme physico-chimique du cérium dans la solution injectée.

La disparition rapide du cérium colloïdal dans le sang circulant est conforme aux résultats publiés par d'autres auteurs pour des colloïdes de nature différente. La vitesse de disparition, caractérisée par la période de 1 à 2 minutes mise en évidence par l'analyse graphique correspond également à des particules colloïdales de grande dimension, celle-ci étant de l'ordre de 0,1 à 0,3 μ.

Après injection de cérium ionique, la vitesse de disparition du cérium lié aux globulines est beaucoup moins rapide. Une différence de comportement du cérium lié aux γ et aux β_2 globulines a été mise en évidence. Cependant la vitesse de disparition du cérium ionique ne correspond pas aux taux de renouvellement des globulines chez ces animaux. D'autres méthodes ont en effet fixé ce taux de renouvellement à 2 ou 3 jours. Les résultats obtenus conduiraient à un taux de renouvellement beaucoup plus rapide. L'étude de la distribution initiale du cérium entre les différents organes nous permettra d'envisager les mécanismes responsables de cette fuite assez rapide du cérium lié aux globulines dans le sang circulant.

II

DISTRIBUTION DU CÉRIUM DANS L'ORGANISME
PHASE INITIALE

1 - METHODES EXPERIMENTALES.

Afin de préciser les modalités de la répartition initiale du cérium injecté par voie veineuse en fonction de sa forme ionique ou colloïdale, nous avons pratiqué chez une série de rats, soit des injections de cérium ionique (solutions de nitrate de cérium à pH 4 $^{144}_{58}Ce$ sans entraineur) soit des injections de cérium colloïdal (solutions de nitrate de cérium à pH 8,5 sans entraineur). Les rats sont sacrifiés par groupe de trois, 15, 30 et 60 minutes après l'injection. Trois rats sont sacrifiés trois jours après l'injection.

Les différents organes sont prélevés, pesés, minéralisés à l'acide nitrique et la radioactivité de l'organe ou du tissu est déterminée par les méthodes décrites précédemment.

2 - RESULTATS EXPERIMENTAUX.

Les résultats sont rassemblés dans les tableaux XVII et XVIII. Ils représentent les moyennes de trois rats pour chaque intervalle de temps. Ils sont exprimés en pourcentage de la dose injectée dans chaque organe. Le sang est considéré comme représentant 6,3 % du poids du corps ; la radioactivité totale du squelette est obtenue à partir de celle des deux fémurs, ceux-ci représentant 11 % du poids du squelette ; les muscles correspondent à 40 % du poids corporel.

Tableau XVII

Distribution initiale du cérium ionique chez le rat après injection intra-veineuse (nitrate de cérium à pH 4).

Organe	% de la radioactivité initiale par organe (+)			
	15 mn	30 mn	60 mn	3 jours
Foie	55	60	72	71,2
Reins	0,6	1,8	1,5	0,5
Rate	0,3	0,3	0,2	0,13
Squelette	4,9	16,6	18,2	22,8
Poumons	1,2	0,5	0,4	0,7
Muscles	8,2	4,5	0,8	0,2
Sang	23,7	14,3	6,8	0,05
Excreta	-	-	-	3
Bilan	6,1	2	0,1	1,4

(+) moyenne de trois rats.

Muscles : 40 % du poids du corps.
Sang : 6,3 % du poids du corps.

Le bilan correspondant aux viscères non prélevés et à la peau, cette dernière contient quelques pourcents de la dose initiale 15 minutes après l'injection.

Tableau XVIII

Distribution initiale du cérium colloïdal chez le rat après injection intra-veineuse (nitrate de cérium à pH 8,5).

Organe	% de la radioactivité injectée par organe total (+)			
	15 mn	30 mn	60 mn	3 jours
Foie	84	86	85	74,5
Reins	0,9	0,9	0,8	0,5
Rate	1,1	1,0	1,2	1,5
Squelette	4	5	5,8	11,3
Poumons	1,6	1,5	1,4	1
Muscles	5	2	2,1	0
Sang	2,5	2	0,8	0,5
Excreta	-	-	-	2,5
Bilan	1	1,6	3,9	1

(+) moyenne de trois rats.
mêmes données numériques que pour le tableau précédent.

L'étude des courbes de sédimentation nous a montré que le cérium colloïdal se présentait sous forme de micelles de dimensions différentes suivant le pH de la solution de cérium.

Nous avons étudié la distribution initiale du cérium colloïdal en fonction de la grosseur des micelles en injectant des solutions de nitrate ou de chlorure à différents pH, compte-tenu des données acquises par l'étude des vitesses de sédimentation en phase aqueuse. 4 séries de rats (6) ont reçu en injection intra-veineuse du cérium colloïdal et ont été sacrifiés par groupe de trois soit 15 minutes soit trois jours après l'injection.

Les résultats obtenus ont été rassemblés dans le tableau XIX.

Tableau XIX

Distribution initiale du cérium colloïdal en fonction de la grosseur des particules.

Nature du sel injecté	Vitesse de sédimentation (mm/h)	% de la radioactivité injectée par organe total									
		15 mn après l'injection					3 jours				
		Foie	Rate	Poumons	Squelette	Sang	Foie	Rate	Poumons	Squelette	Sang
Nitrate de cérium pH 6	1,9	60	1,5	16	12	6	72	1,1	5	25	-
Chlorure de cérium pH 11,5	2	50 à 15	1	40 70	2,5	3,5	58	1,5	4	30	-
Nitrate de cérium pH 8,5	4	85	1	1,5	5	2,5	75	1,5	1	21,5	-
Nitrate de cérium pH 12,5	10	90	1	1,6	3	2	75	1,1	0,8	22	-

3 - INTERPRETATION.

Ces résultats mettent en évidence les différences nettes dans la distribution initiale du cérium sans entraineur après injection intra-veineuse chez le rat, en fonction de la nature ionique ou colloïdale de cet élément dans la solution d'injection.

Les données obtenues le 3ème jour montrent en outre qu'une redistribution du cérium prend place secondairement. Elles n'ont été rapportées ici qu'à titre indicatif.

Les organes fixateurs principaux du cérium sont, quel que soit l'état du cérium, le foie et le squelette. Dans certaines conditions les poumons fixent une fraction importante du cérium administré.

Foie.

Cet organe est l'organe fixateur le plus important dans la phase initiale :

- après administration sous forme ionique, 70 % du cérium sont retrouvés dans le foie à la fin de la période de distribution initiale, soit 60 minutes après l'injection. 55 % du cérium sont déjà fixés par le foie 15 minutes après l'injection.

- après administration sous forme colloïdale, le taux de fixation varie dans de larges limites en fonction de la grosseur des agrégats colloïdaux, mais la distribution est très rapide : 15 minutes après l'injection, la phase de distribution initiale est pratiquement terminée. Le taux de fixation peut atteindre des valeurs élevées (90 % dans le cas d'agrégats de grandes dimensions) ou présenter des valeurs voisines de celles constatées dans le cas du cérium ionique. Chez certains rats ayant reçu du chlorure de cérium à pH 11,5 nous avons constaté une fixation très peu importante à 15 minutes : 15 % seulement de la dose injectée. Dans ces derniers cas, la fraction non fixée dans le foie apparaît dans les poumons.

Poumons.

Les poumons ne fixent pratiquement pas le cérium ionique ; ils ne retiennent pas davantage le cérium colloïdal dont les agrégats sont de grande dimension. Par contre ils deviennent importants dans le cas des colloïdes de dimensions plus réduites et peuvent même être l'organe fixateur principal pour les agrégats de dimension intermédiaire : de 40 à 75 % de la dose initiale peuvent être accumulés dans les poumons 15 minutes après l'injection de chlorure de cérium à pH 11,5.

Squelette.

L'ensemble du squelette apparaît comme le deuxième lieu de fixation important du cérium. Cependant son pouvoir de fixation est beaucoup plus important pour le cérium lié aux globulines que pour le cérium colloïdal. Nous constatons en effet qu'à la fin de la phase de distribution initiale, 18 à 20 % du cérium ionique sont fixés par le squelette, alors que 5 à 6 % seulement du cérium colloïdal sont retrouvés dans l'os.

Rate.

La rate ne fixe qu'une fraction infime du cérium ionique (0,2 à 0,3 %) alors qu'elle fixe 1,0 à 1,2 % du cérium colloïdal. Cette différence, bien que peu importante, est cependant significative.

Reins.

Le taux de fixation est peu élevé (1,5 %) dans le cas du cérium ionique mais il est plus élevé que dans le cas du cérium colloïdal, pour lequel ces organes ne contiennent que 0,8 à 0,9 % de la dose initiale. Notons que, contrairement à la rate, les reins fixent mieux le cérium ionique que le cérium colloïdal.

Autres organes.

Si une certaine fraction de la radioactivité injectée est retrouvée dans la peau et dans les muscles 15 minutes après l'injection, à la fin de la phase de distribution initiale, ces tissus ne renferment pratiquement plus de cérium quelle que soit la forme du cérium injecté. La radioactivité de ces tissus, aux temps rapprochés de l'injection, est due en partie au sang qu'ils contiennent mais ne peut être expliquée totalement par ce fait. Compte-tenu de la masse importante relativement, des muscles et de la peau chez le rat, ces tissus ne peuvent être considérés comme possédant un pouvoir de fixation important pour le cérium.

A la fin de la période initiale de distribution, nous pouvons constater que le cérium administré se répartit entre le foie et le squelette dans des proportions différentes suivant l'état sous lequel le cérium a été injecté , les poumons fixant dans certaines conditions une fraction importante du cérium colloïdal.

4 - DISCUSSION.

Les données expérimentales que nous venons d'exposer ne peuvent que partiellement être comparées aux résultats publiés par les différents auteurs ayant étudié la distribution du cérium après injection intra-veineuse. La plupart de ceux-ci ont en effet étudié la répartition du cérium 24 heures ou plus après l'administration de cet élément. Seule P.W. Durbin [18] a étudié la cinétique dans le sang et les taux de fixation dans le foie et dans le squelette pendant la phase initiale (4 premières heures). Cependant cet auteur a utilisé des solutions citriques et nous avons vu que les résultats obtenus dans ces conditions ne peuvent prétendre représenter le métabolisme du cérium ionique. Les résultats de Durbin se rapprochent cependant des nôtres : fixation de l'ordre de 50 % dans le foie et de l'ordre de 20 % dans le squelette, 90 à 120 minutes après l'injection.

Si tous les auteurs ont constaté une instabilité des solutions de cérium trivalent aux pH supérieurs à 4 ou 5, aucun n'a fait d'étude systématique de la distribution du cérium en fonction de son état physico-chimique dans les solutions administrées ; tous admettent en effet l'hypothèse du devenir colloïdal du cérium trivalent dans les liquides biologiques. Leurs efforts ont tendu vers l'obtention et l'utilisation de solutions d'injection stables mais non vers l'étude du comportement du cérium sous ses divers états physico-chimiques. Catsch et coll. [10] ont constaté l'importance du pH de la solution d'injection sur les modalités de la distribution du cérium dans les différents organes, mais ils attribuent les différences constatées dans le taux de fixation par le foie, le squelette, la rate et les reins, après injection intra-veineuse de chlorure de cérium à pH compris entre 4 et 8, à l'augmentation des propriétés colloïdales du cérium en fonction du pH. Ces auteurs ne font aucune allusion à l'état physico-chimique du cérium dans les solutions d'injection et ils admettent également l'hypothèse du devenir colloïdal du cérium dans le sang.

Les données rapportées par ces auteurs concernent des rats témoins sacrifiés 48 heures après l'injection du radioélément ; nous avons présenté les résultats de l'étude de la distribution du cérium ionique et colloïdal trois jours après l'injection dans les tableaux XVII et XVIII de façon à permettre la comparaison de nos résultats avec ceux de Catsch et coll. [10].

La distribution du cérium le troisième jour, montre par comparaison avec la répartition à la fin de la phase de distribution initiale, l'existence d'une phase de redistribution prenant place entre le premier et le troisième jour. La confrontation de nos résultats avec les données publiées, montre qu'ils s'inscrivent dans le cadre général du métabolisme du cérium après injection par voie veineuse. L'étude de la distribution à la fin de la période initiale apporte cependant quelques précisions intéressantes.

Cérium ionique.

15 minutes après l'injection de cérium ionique, 55 % de la dose injectée sont retrouvés dans le foie, 5 % dans le squelette et 24 % dans le sang. Les muscles et la peau contiennent 15 à 20 % du cérium injecté.

60 minutes après l'injection, le foie et le squelette réunis, contiennent environ 88 % de la dose initiale, le sang 7 % et les autres tissus sont pratiquement vides de cérium.

30 % de la dose ont donc été fixés, entre la 15ème et la 60ème minute par le foie et le squelette. Ces 30 % représentent non seulement le cérium ayant quitté le sang pendant ce laps de temps (16 %) mais également celui primitivement retenu dans la peau et dans les muscles (15 à 20 %).

Ces faits montrent que le cérium retrouvé à la 15ème minute dans la peau et dans les muscles n'est pas fixé solidement dans ces tissus, mais qu'il est remis très rapidement en circulation dans le sang, soit directement soit par l'intermédiaire du système lymphatique. Le foie et le squelette, en particulier le foie, fixent très rapidement le cérium du sang circulant. Le taux de fixation dans ces organes ou tissus, croit d'une façon continue jusqu'à disparition totale du cérium dans les autres tissus. Le maximum de fixation dans le foie est atteint 5 heures après l'injection. Le cérium initialement dans le sang dès l'injection est en partie capté par le foie et par le squelette, et en partie soustrait au processus de fixation hépatique.

Nous savons d'autre part que l'espace de diffusion des globulines plasmatiques est environ

deux fois plus important que l'espace intravasculaire. La fraction extravasculaire de l'espace de diffusion des globulines est constituée par l'ensemble des espaces interstitiels, localisés principalement dans la peau, le tissu cellulaire sous-cutané et les muscles. Une fraction dont l'importance est de l'ordre de 15 à 20 % de la dose initiale de cérium, est entrainée dans les espaces extravasculaires par les globulines, vectrices du cérium. Les globulines, après un séjour de courte durée dans les espaces interstitiels, retournent dans la circulation générale. Nous pouvons supposer que la liaison globulines-cérium n'est pas rompue au cours du séjour extravasculaire des globulines, puisque le séjour du cérium dans ces espaces est de courte durée. Nous pouvons donc admettre, pour une partie du cérium fixé sur les globulines, un cycle extravasculaire sans rupture de la liaison globuline-cérium ramenant le cérium dans le sang après un séjour de courte durée dans ces espaces, et une fixation secondaire par le foie. L'intervention de ce mécanisme de diffusion des globulines vectrices du cérium rend compte de la fixation prolongée du cérium par le foie et de la disparition rapide du cérium initialement retrouvé dans la peau et dans les muscles.

La fixation du cérium transporté par les globulines, au niveau du tissu hépatique ou osseux, pose un problème auquel il n'est pas possible d'apporter une réponse certaine dans l'état actuel de nos connaissances : le foie est un lieu de stockage et de destruction des gamma globulines. Cependant la fixation du cérium par le foie ne peut être attribuée à ce seul mécanisme, du fait de la rapidité de la fixation. Cette hypothèse conduirait à admettre une vitesse de renouvellement des globulines bien inférieure à celle trouvée par d'autres méthodes, en particulier au moyen de globulines marquées à l'iode 131, au soufre 35 ou à l'azote 15.

Une autre hypothèse peut être formulée : le tissu hépatique retiendrait les globulines marquées, celles-ci étant considérées comme altérées du fait de leur liaison avec le cérium. Elles seraient dans ce cas fixées électivement par le tissu hépatique. Aucun fait expérimental ne nous permet de confirmer ou d'infirmer cette possibilité.

Une troisième hypothèse peut encore être envisagée : nous avons constaté que la liaison globuline-cérium est labile : elle est rompue à pH compris entre 5,8 et 6,4 in vitro. Or, les cellules hépatiques ont un pH légèrement acide. Dans ces conditions, la rupture de la liaison globuline-cérium au niveau des cellules hépatiques peut se produire, expliquant ainsi l'importance et la rapidité de la fixation du cérium ionique par le foie. Cette hypothèse nous paraît beaucoup plus vraisemblable que celle faisant intervenir une altération des globulines ayant fixé le cérium.

Ce mécanisme ne parait pas pouvoir intervenir au niveau du tissu osseux : le pH des cellules de l'os est mal précisé mais un pH inférieur à celui des liquides biologiques ne leur a jamais été attribué. Un autre mécanisme doit donc être envisagé pour expliquer la fixation du cérium dans l'os. Le squelette est particulièrement riche en agents complexants et en radicaux susceptibles de former avec le cérium des composés stables et insolubles. Dans ces conditions, la fixation du cérium par le squelette pourrait être attribuée à la formation locale, in situ, de tels composés (phosphate de cérium insoluble par ex.) la rupture de la liaison globuline-cérium étant réalisée au profit d'un radical de constante d'association plus grande.

Ce mécanisme pourrait également intervenir au niveau des cellules hépatiques, mettant en jeu des agents complexants différents. Il a d'ailleurs été démontré, in vitro, que le cérium forme des complexes avec les constituants de la bile et ce mécanisme peut être envisagé pour expliquer l'existence de cérium dans la bile des rats ayant reçu une injection intra-veineuse de cérium, présence que nous avons mise en évidence au cours d'expériences non rapportées ici.

Il ne nous a pas été possible de préciser le devenir de la faible fraction de cérium ionique transportée par les globules blancs : celle-ci disparait rapidement du sang et est finalement retrouvée dans le foie et dans le squelette.

Cérium colloïdal.

La distribution du cérium colloïdal dans les différents organes est comparable à celle des autres colloïdes et est fonction de la dimension des agrégats micellaires dans le sang.

Les colloïdes sont retenus par les éléments du système réticulo-endothélial et les localisations dans les organes riches en formations réticulo-endothéliales sont conformes aux données récentes publiées en particulier par Dobson et coll. [14] : les colloïdes de grande dimension sont très rapidement fixés par le foie, le squelette et la rate n'en fixant qu'une petite fraction. Par contre, les colloïdes de dimension intermédiaire sont captés par le foie et par les poumons, ce que montrent les expériences présentées. Le squelette participe également à la fixation de ces colloïdes intermédiaires, mais faiblement.

La fixation du cérium colloïdal par la rate est cependant faible ; la comparaison des taux de fixation dans le foie et dans la rate, par gramme d'organe, montre que ce dernier organe fixe environ dix fois moins de cérium que le foie. L'explication de ce fait nous parait devoir être recherchée en fonction des dimensions des agrégats colloïdaux : la rate fixe les colloïdes de petite dimension et les colloïdes de cérium dans le sang n'appartiennent pas à cette catégorie, sauf lorsque le pH de la solution injectée est de l'ordre de 4 à 6. Cette explication parait confirmée par le taux de fixation du nitrate de cérium à pH 6 dans la rate : ce taux est 50 % plus élevé que pour les colloïdes de dimensions plus grandes.

CONCLUSIONS

Au cours de ce travail, nous avons, par une méthode nouvelle, étudié l'état physico-chimique du cérium en solutions très diluées, à l'échelle des indicateurs radioactifs, à partir de solutions de nitrate et de chlorure de cérium ($^{144}_{58}Ce$ - $^{144}_{59}Pr$ sans entraineur), en fonction du pH de ces solutions.

L'état ionique ou colloïdal du cérium, dans ces conditions, est fonction de la nature de l'anion du sel céreux et du pH de la solution.

Pour un sel donné, (nitrate ou chlorure), la courbe représentant, en fonction du pH, le pourcentage de cérium existant sous forme ionique et sous forme colloïdale dans la solution, est complexe.

Pour les pH inférieurs à 3 dans le cas du nitrate et à 4,5 dans le cas du chlorure, le cérium est totalement ionique.

Pour les pH supérieurs à 11,5 le cérium est colloïdal quel que soit l'anion du sel céreux.

Pour les pH situés entre ces limites, un équilibre est réalisé entre les phases ionique et colloïdale, dans des proportions variables en fonction du pH.

L'existence de colloïdes dans une zone d'acidité faible a été attribuée à la formation d'un sel basique insoluble. Ce sel n'existerait que dans les solutions très diluées. L'hydroxyde de cérium colloïdal apparaitrait ainsi, dans les solutions étudiées, dans les conditions prévues par la théorie.

L'étude des courbes de sédimentation nous a permis d'autre part d'apprécier les dimensions relatives des agrégats colloïdaux en fonction du pH de la solution.

Connaissant la nature ionique ou colloïdale du cérium dans les solutions étudiées, nous avons pu déterminer, à la suite d'expériences successivement conduites in vitro, dans le plasma et dans le sang de différents animaux de laboratoire, et in vivo, chez le rat et chez le lapin, le mode de transport du cérium sans entraineur dans le sang.

Utilisant conjointement les méthodes classiques d'étude des différents constituants plasmatiques et une technique nouvelle de fractionnement des éléments figurés du sang, nous avons pu montrer que le mode de transport du cérium dans le sang, après administration par voie veineuse d'une solution de $^{144}_{58}Ce$ - $^{144}_{59}Pr$ sans entraineur, sous forme de nitrate ou de chlorure de cérium, est fonction de l'état physico-chimique de cet élément dans les solutions administrées à l'animal. Le cérium ionique est transporté dans le sang circulant par les γ et les β_2 globulines. Une faible fraction du cérium ionique est transportée par les globules blancs. Les autres éléments figurés du sang ne participent pas à ce transport. Le fait de retrouver cet élément avec la fraction blanche après centrifugation, ne correspond pas à une adsorption ou à une fixation métabolique du cérium colloïdal par les globules blancs, mais doit être expliqué par les lois physiques de la centrifugation d'un milieu hétérogène.

Ces résultats nous permettent d'affirmer que le cérium ionique, contrairement à l'hypothèse admise jusqu'ici, ne devient pas colloïdal au contact du sang.

L'étude de la distribution initiale du cérium dans les organes et les tissus du rat, après injection intra-veineuse d'une solution de $^{144}_{58}Ce$ - $^{144}_{59}Pr$ sans entraineur, à un pH connu, nous a permis de préciser les modalités de la disparition du cérium du sang circulant, et de déterminer le taux de fixation du cérium par les différents organes, en fonction de l'état ionique ou colloïdal du cérium dans la solution administrée. Des différences importantes ont été constatées non seulement dans la nature de l'organe fixateur mais également dans les taux de fixation dans le foie, la rate

et le squelette. De plus, les taux de fixation varient en fonction des dimensions des agrégats micellaires, elles-mêmes fonction du pH de la solution utilisée. Ces derniers résultats sont en accord avec ceux publiés par les auteurs ayant étudié la répartition des colloïdes dans l'organisme en fonction de la grosseur des micelles.

Ces différents résultats montrent l'importance des facteurs physico-chimiques dans la distribution et dans le métabolisme du cérium dans les organismes animaux. Ils permettent également d'apporter une explication aux données divergentes contenues dans les publications relatives au métabolisme du cérium et de les relier entre elles, bien que les conditions expérimentales utilisées par les différents auteurs rendent difficile une telle comparaison du fait de leur manque d'homogénéité.

Il serait intéressant d'étendre aux autres terres rares la méthode d'étude des solutions, méthode exposée dans ce travail. En effet, le cérium est considéré comme élément type des terres rares légères. Les études de métabolisme entreprises avec les différentes terres rares au moyen de leurs radioisotopes ont montré une évolution continue des taux de fixation par le foie et par le squelette en fonction du numéro atomique de celles-ci : le taux de fixation par le foie diminue progressivement des terres rares légères aux terres rares lourdes. La fixation par le squelette varie en sens inverse. Or, les propriétés physico-chimiques des divers éléments de cette série varient également en fonction de leur numéro atomique. Nos résultats font penser que les variations constatées dans les taux de fixation dans les organes, pour les différentes terres rares, sont plus la conséquence de l'état physico-chimique sous lequel se trouve l'élément dans la solution utilisée pour l'administration à l'animal, que dues à la nature chimique de cet élément. Une étude d'ensemble seule permettrait de préciser ce point.

Le mode de transport des terres rares est mal connu à l'heure actuelle et il serait important de savoir si les résultats obtenus avec le cérium sont applicables aux autres éléments de la série des terres rares. Les quelques travaux publiés jusqu'ici sur ce sujet indiquent soit une liaison avec les différentes protéines plasmatiques soit un comportement colloïdal sans que l'état physico-chimique de l'élément ait été précisé dans la solution d'injection. Il serait intéressant d'étendre aux autres terres rares les méthodes d'études proposées afin de fixer les modes de transport mis en jeu par l'organisme.

De plus, certains auteurs ont constaté que le métabolisme du plutonium 239 était voisin de celui du cérium. Ce dernier pourrait même être utilisé en remplacement du plutonium pour certaines études métaboliques. Or le plutonium présente, à certains états de valence, en solution très diluée, des propriétés physico-chimiques voisines de celles du cérium. Ces faits, s'ils étaient confirmés par une étude comparative, apporteraient une confirmation à l'hypothèse proposée plus haut, envisageant un rôle plus important de l'état physico-chimique que de la nature chimique de l'élément, lorsque celui-ci n'entre pas normalement dans les processus métaboliques physiologiques.

Sur un plan pratique, nos résultats font apparaitre l'importance, pour le médecin appelé à mettre en oeuvre des moyens thérapeutiques en présence d'une radiocontamination accidentelle, de connaître avec précision la nature de la substance contaminante : en fonction de celle-ci, les possibilités d'intervention efficace varient. En effet, jusqu'ici, les possibilités thérapeutiques sont limitées, dans le temps, à la phase sanguine de la radiointoxication. Le délai d'intervention est donc réduit à la phase de distribution initiale, elle-même fonction de l'état ionique ou colloïdal du cérium introduit dans l'organisme. Ce délai est de l'ordre de une à deux heures après contamination par du cérium ionique ; il n'est que de quelques minutes dans le cas de contamination par du cérium colloïdal.

Les moyens thérapeutiques à mettre en oeuvre apparaissent comme devant être différents suivant la nature de la contamination par un sel de cérium : l'utilisation d'agents complexants (citrates ou sel sodique dicalcique de l'acide éthylènediaminetetraacétique) peut être envisagée dans le cas de contamination par du cérium ionique, alors que le citrate de zirconium, proposé par les auteurs américains dans les cas de contamination par le plutonium 239, pourrait être utilisé après contamination par du cérium colloïdal, à condition qu'il soit administré dans les minutes qui suivent l'introduction du radioélément dans le sang.

Il est d'autre part certain que l'introduction directe d'un radioélément dans le sang ne constitue pas le mode de contamination le plus probable. Cette éventualité doit cependant être envisagée, par exemple à l'occasion d'une piqûre, d'une blessure ou d'une brûlure. L'étude du métabolisme d'un radioélément après introduction par voie veineuse présente cependant un intérêt considérable : elle permet de supprimer l'intervention des facteurs tissulaires locaux entrant nécessairement en jeu lorsque toute autre voie d'administration est utilisée. La comparaison des résultats obtenus

après injection intra-veineuse avec ceux obtenus par les autres voies d'administration, rend possible l'appréciation de l'importance des facteurs locaux dans la distribution ultérieure de l'élément utilisé. Ces raisons justifient pleinement les études faites à partir d'injections intra-veineuses.

Sur le plan de la radiotoxicité du cérium, la constatation de variations importantes dans les taux de fixation et dans la nature des organes fixateurs, en fonction de l'état ionique ou colloïdal du cérium, suggère l'existence de différents degrés dans la radiotoxicité d'une dose donnée. Cependant, la mise en évidence d'une phase de redistribution prenant place dans les quelques jours consécutifs à une injection intra-veineuse, tendant à uniformiser la distribution dans les organes fixateurs principaux, atténue l'effet de ces variations. L'existence de cette phase de redistribution permet un allongement des délais d'intervention thérapeutique : une imprégnation continue de l'organisme par un agent complexant approprié peut permettre d'atteindre le cérium circulant au fur et à mesure de sa réintroduction dans le torrent circulatoire et d'en favoriser l'élimination. Cette possibilité reste cependant problématique en l'absence de données précises sur le mode de transport du cérium au cours de cette phase de redistribution. Ce n'est que lorsque les données concernant le mode de transport au cours des différentes phases du métabolisme du cérium seront précisées, qu'il sera possible de préciser les modalités thérapeutiques à mettre en oeuvre.

BIBLIOGRAPHIE

[1] ABRAMS R. - MDDC-248.

[2] AEBERHARDT A. - Rapport CEA n° 587 (1956).

[3] AEBERHARDT A. - Revue d'Hématologie 11, 4, 1956 (426-433).

[4] ANTHONY D.S. and LATHROP K.A. - CH-3824 (1947).

[5] BAMANN E. - Festnummer d. Dtsch. Apotheker, Ztg.z. Dtsch. Apothekertag. Münich 1954.

[6] BOUISSIERES G., CHASTEL R. et VIGNERON L. - C.R. Acad. Sc. 224, 1947 (43-45).

[7] BESSIS M. - "Cytologie sanguine", Masson et Cie Ed. Paris 1948.

[8] BILTZ W. - Ber. deut. Chem. Ges. 35, 1902 (4434).

[9] BRITTON H.T.S. - "Hydrogen Ions", Chapman and Hall Ltd London, 1929.

[10] CATSCH A. und Du KHUONG LE - Strahlentherapie 104, 4, 1957 (494-506).

[11] CHAMIE C. - C.R. Acad. Sc. 185, 1927 (1277).

[12] CHEVILLARD L. et HAMON F. - C.R. Soc. de Biol. 139, 1945 (286-288).

[13] CRADDOCK Ch.G., PERRY S. and LAWRENCE J.S. - J. Clin. Invest. 35, 3, 1956 (285-296).

[14] DOBSON E.L., GOFMAN J.W., JONES H.B., KEUYS L.S. and WALKER L.A. - J. Lab. and Clin. Med. 34, 3, 1949 (305-312).

[15] DUBERT J.M., SLIZEWICZ P., REBEYROTTE P. et MACHEBOEUF M. - Ann. I. P. 84, 1953 (370-375).

[16] DURBIN P.W., WILLIAMS M.H., GEE M., NEWMAN R.N. and HAMILTON J.G. - Proc. Exp. Biol. and Med. 91, 1956 (78-85).

[17] DURBIN P.W., WILLIAMS M.H., GEE M., NEWMAN R.N. and HAMILTON J.G. - UCRL-3066, 1955.

[18] DURBIN P.W., ASLING C.W., JOHNSTON M.E., HAMILTON J.G. and WILLIAMS M.H. - ORINS-12, 1956 (171-191).

[19] DZELEPOV V.S. et PETER L.K. - Acad. des Sciences URSS Moscou 1957, (traduction U.S. Document AECL-457, 1957).

[20] EMERSON C.L. - "Separation of the formed elements, the protein carbohydrate, lipid, steroid and other components of plasma" Harvard University 1950 (65-66).

[21] FIESSINGER N. - "Les ferments des Leucocytes" Masson et Cie Edit. Paris 1923.

[22] FOREMAN H. and FINNEGAN C. - ORINS-12, 1956 (136-142).

[23] GIBSON J.G., VALLEE B.L. and HUGUES W.L. - Blood, special issue 1, 1947 (82-87).

[24] HAISSINSKY M. - C.R. Acad. Sc. 198, 1934 (572).

[25] HAISSINSKY M. - "Les radiocolloïdes" Actualités scientifiques n° 185 Hermann et Cie Edt. Paris 1934.

[26] HAISSINSKY M. - "La chimie nucléaire et ses applications". Masson et Cie Edit. Paris 1957.

[27] HAMILTON J.G. - MDDC-1000, 1947.

[28] HAMILTON J.G. - Radiology 49, 3, 1947 (325-343).

[29] HAMMERSTEN R. - Biochem. Ztschr. 144, 1924 (383).

[30] JOWSEY J., MARSHALL J.H. and ROWLAND R.E. - ANL-5679, 1956 (46-47).

[31] KAWIN B., COPP D.H. and HAMILTON J.G. - UCRL-813, 1950.

[32] KREMERS H.E. - ORINS-12, 1956 (12-26).

[33] KORVEZEE A. - J. Chim. Phys. 30, 1933 (130).

[34] KURBATOV J.D. and KURBATOV M.H. - J. Phys. Chem. 46, 1942 (441-457).

[35] KURBATOV J.D. and POOL M.L. - Phys. Rev. 65, 1, 1944.

[36] KUTZIM H. - Strahlentherapie 104, 4, 1957 (551-557).

[37] LUX H. - Angew. Chem. 51, 1958 (191) - cité dans Flaschentrager B. und Lehnantz E. "Physiologische Chemie. Die Stoffe" Band I (194) Springer-Verlag, Berlin 1951.

[38] MAUPIN B. - "Le Sang" 21, 1, 1950 (76-87).

[39] MAUPIN B. - "Les plaquettes sanguines". Masson et Cie Edit. Paris 1954.

[40] MAUPIN B. et CHARY R. - Le Sang, 23, 4, 1952 (336-340).

[41] NORRIS W.P., LISCO H. and BRUES A.M. - ORINS-12, 1956 (102-115).

[42] ONCLEY J.L. - "Blood cells and plasma proteins" n° 2 (J.L. Tullis) Memoirs of the University Laboratory of Physical Chemistry related to medicine and public health. Harvard University Acad. Press. N.Y. 1953.

[43] OTTESEN J. - Acta Physiol. Scand. 32, 1, 1954 (75-93).

[44] PANETH F. - Kolloid Z. 13, 1-4, 1913 (297-305).

[45] PILLEMER L. and HUTCHINSON M.C. - J. Biol. Chem. 158, 1945 (299).

[46] SCHUBERT J. - Nucleonics 8, 3, 1951, (66-78).

[47] SCHWARTZ S., GRAZIA L. de, CHENEY K., HASENFUS M.B. and COHEN S. - MDDC-267.

[48] SCHWEITZER G.K. - ORINS-12, 1956 (31-34).

[49] SCHWEITZER G.K. and JACKSON M. - J. Chem. Educ. 29, 1952 (513-522).

[50] SCHWEITZER G.K. and JACKSON W.M. - J. Am. Chem. Soc. 74, 1952 (4178-4180).

[51] SCHWEITZER G.K., STEIN B.R. and JACKSON W.M. - J. Am. Chem. Soc. 75, 1953 (793-795).

[52] SCHWEITZER G.K. and JACKSON W.M. - J. Am. Chem. Soc. 76, 1954 (941).

[53] SCHWEITZER G.K. and SCOTT H.E. - J. Am. Chem. Soc. 77, 1955 (2753-2755).

[54] SCOTT K.G., OVERSTREET R., JACOBSON L., HAMILTON J.G., FISCHER H., CROWLEY J., CHAIKOFF I.L., ENTEMANN C., FISHER M., BARBER A.J. and LOOMIS F. - MDDC-1275, 1947.

[55] SEIBERT H.C. and ABRAMS R. - MDDC-329, 1946.

[56] SINGER T.P., SILBERBACH I. and SCHWARTZ S. - MDDC-269.

[57] SPEARS F. - Blood 3, 1948 (1055-1056).

[58] STERN K.G. and STEINBERG M.A. - Biochem. Biophys. Acta 2, 1953 (353).

[59] SULLIVAN W.H. - "Trilinear Chart of Nuclides" Oak Ridge National Laboratory 2nd Ed 1957.

[60] SZIGMONDY R. - Kolloïd Z. 6, 1913 (304).

[61] SZILARD P. - Plüger's Archiv für die Gesamte Physiol. 11, 1926 (597-602).

[62] TULLIS J.L. - "Separation of the formed elements, the protein, carbohydrate, lipid, steroid, peptide and other components of plasma" - Harvard Univeristy 1950 (66-69).

[63] TULLIS J.L. - Blood 7, 1952 (891-896).

[64] WERNER O. - Z. Phys. Chem. A. 156, 1931 (89).

TABLE DES MATIÈRES

Pages

I - INTRODUCTION 5

II - RAPPEL DE QUELQUES PROPRIETES CHIMIQUES ET PHYSIQUES DU CERIUM ... 8

Propriétés chimiques 8
Propriétés physiques radioactives 9
Chaine de fission 144 10

III - METABOLISME DU CERIUM 144 SANS ENTRAINEUR CHEZ L'ANIMAL 12

Historique 12
Distribution du cérium 144 dans l'organisme 14
Discussion 15

Première Partie
ETAT PHYSICO-CHIMIQUE DES SOLUTIONS DE CERIUM 144 SANS ENTRAINEUR

I - INTRODUCTION 17

II - EXPERIMENTATION 19

Méthode d'étude des radiocolloïdes 19
Résultats expérimentaux 22
Interprétation des courbes expérimentales 25
Discussion 30

III - CONCLUSIONS 33

Deuxième Partie
MODE DE TRANSPORT DU CERIUM 144 SANS ENTRAINEUR DANS LE SANG

I - INTRODUCTION 35

II - COMPORTEMENT DU CERIUM SANS ENTRAINEUR DANS LE PLASMA 37

Méthodes expérimentales et résultats 37
Interprétation 37

III - COMPORTEMENT DU CERIUM SANS ENTRAINEUR DANS LE SANG TOTAL, IN VITRO 49

Méthodes expérimentales 49
Résultats expérimentaux 53
Interprétation et discussion 57

Pages

IV - MODE DE TRANSPORT DU CERIUM DANS LE SANG, IN VIVO..... 61

Méthodes expérimentales..... 61
Résultats expérimentaux..... 61
Interprétation..... 66

V - DISCUSSION ET CONCLUSION..... 67

Troisième Partie
APPLICATION : DISTRIBUTION INITIALE DU CERIUM
CHEZ LE RAT APRES INJECTION INTRA-VEINEUSE

I - ETUDE CINETIQUE DANS LE SANG..... 72

Sang total..... 72
Fraction du sang..... 76
Interprétation..... 80
Discussion..... 81

II - DISTRIBUTION DU CERIUM DANS L'ORGANISME, PHASE INITIALE..... 82

Méthodes expérimentales..... 82
Résultats expérimentaux..... 82
Interprétation..... 84
Discussion..... 85

CONCLUSIONS..... 88

BIBLIOGRAPHIE..... 91

DEUXIEME THESE

Propositions données par la Faculté

MODIFICATIONS DU METABOLISME DES PRODUITS DE FISSION ET DES TRANSURANIENS PAR LES AGENTS DE CHELATION.

Vu et approuvé
Paris, le 19 Juillet 1960
Le Doyen de la Faculté des Sciences,
J. PERES

Vu
et Permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie
de Paris,
Jean SARRAILH

IMP. LOUIS-JEAN – GAP
Dépôt légal n° 91 – 1961